



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**JONAS JOAQUIM MANGABEIRA DA SILVA**

Avaliação da estabilidade oxidativa de óleos alimentícios  
na presença de compostos fenólicos sintéticos e naturais

Belém – Pará  
2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**JONAS JOAQUIM MANGABEIRA DA SILVA**

# Avaliação da estabilidade oxidativa de óleos alimentícios na presença de compostos fenólicos sintéticos e naturais

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Pará, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Dr<sup>o</sup> Hervé L. G. Rogez

Co-orientadora: Dr<sup>a</sup> Maria José Viera Fonseca

Belém – Pará  
2011

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Biblioteca do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química**

---

Silva, Jonas Joaquim Mangabeira da

Avaliação da estabilidade oxidativa de óleos alimentícios na presença de compostos fenólicos sintéticos e naturais/ Jonas Joaquim Mangabeira da Silva; orientador, Hervé Louis G. Rogez; co-orientador, Maria José Viera Fonseca.\_ Belém - 2012

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará. Instituto de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2011

1. Óleos e gorduras alimentícias      2. Lipídios - oxidação  
3. Antioxidantes I. Título

CDD 22.ed. 665.3

---



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE TECNOLOGIA  
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**JONAS JOAQUIM MANGABEIRA DA SILVA**

# Avaliação da estabilidade oxidativa de óleos alimentícios na presença de compostos fenólicos sintéticos e naturais

DATA DA AVALIAÇÃO: **14/07/2011**.

PARECER DA BANCA: **APROVADO**.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr<sup>o</sup> Hervé L. G. Rogez  
(FEA/ITEC/UFPA – Orientador)

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Lúcia de Fátima Henrique Lourenço  
(FEA/ITEC/UFPA – Membro)

---

Prof. Dr<sup>o</sup> Geraldo Narciso da Rocha Filho  
(FQ/ICEN/UFPA – Membro externo)

---

Prof. Dr<sup>o</sup> Evaldo Martins da Silva  
(FEP/IEC/UFPA – Suplente)

Dedico este trabalho e a conclusão do curso de mestrado, bem como tudo que conquisto na minha vida ao Deus pai todo poderoso e a minha família, em especial a minha mãe Terezinha Mangabeira.

## AGRADECIMENTOS

*Primeiramente agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Pará (FAPESPA) pelo suporte financeiro para execução deste trabalho.*

*A Deus pelas bênçãos, proteção e força dadas para que eu pudesse superar todos os obstáculos encontrados ao longo desse mestrado. “Se hoje concluo mais esta etapa importante na minha formação foi porque o Pai celestial permitiu” **Mais uma vez: toda honra e glória e dada a ti! Glória a Deus.***

*À minha rainha e guerreira mãe, Terezinha Mangabeira, mulher da minha vida e que tanto amo; pelo apoio, amor, dedicação e tantas virtudes ensinadas. **Mãe, serei grato por tudo que fizestes e faz por mim pelo resto da minha vida!!!***

*As minhas irmãs e companheiras: Nice (A Mangabeira), Eliane (A Lia), Rosane (A Roz) e Halessandra (A minha Mãezinha), por todo auxílio, palavras de encorajamento e acima de tudo confiança depositada em minha pessoa.*

*Aos meus cunhados Ricardo Lira e Paulo H, sobrinhas Izadora, Ana Beatriz, Rebeca, Raquel e Amanda, e ao meu pai Joaquim Ferreira, os quais de alguma forma me apoiaram e incentivaram durante mais essa caminhada.*

*À minha querida namorada Marília Cavalcante, que sempre esteve ao meu lado, procurando me incentivar e apoiar em todos os momentos. “Lembro-me daquela conversa que tivemos no UFPA A. Cacela sobre fazermos mestrado e sei o quanto ela foi importante. Te amo minha Flor!!!”*

*Ao Sr. Fernando e Sr<sup>a</sup> Ana Cavalcante pelo apoio e auxílio...*

*Ao meu orientador Hervé Rogez, por mais esta oportunidade, pela confiança deposita e conhecimentos repassados ao longo destes anos trabalhando. Obrigado Chefe!*

*Aos Professores Evaldo Martins, Jesus Souza, José Guilherme Maia, Lênio Farias, Lúcia Lourenço, Roberto Neves e Maria José V. Fonseca pelo conhecimento repassado e o grande auxílio dado para a construção deste trabalho de pesquisa.*

*Aos meus verdadeiros amigos na pessoa de Danuza Freitas, Mário Guimarães, Ewerton Fonseca, Juarez David, Glauco Oliveira, Deylane Baia...*

*Aos meus colegas de mestrado Afonso Ramoa Jr e Camilo Teixeira.*

*Ao colega Damien Michotte pelo conhecimento compartilhando e auxílio técnico no desenvolvimento desta dissertação de mestrado.*

*Aos meus colegas de trabalho da Usina de Alimentos e L&EQ, Anderson Pereira, Aureliano Dias, Blenda Divino, Fágner Aguiar, Jaqueline Moraes, Kleudson Lobato, Luciana Silva, Orquídea Vasconcelos, Rafael Holanda, Socorro Lopes (A Help). Em especial a Christelle Herman, Elen Caramês, Fernanda Damin, Fernanda Waris e Lúvia Miagawa, pelo auxílio técnico.*

*Aos meus colegas da Extrafarma: Marcel, Orlando, Luciene, Luciel, Felipe, Lucinaldo, Márcio, Rafael, Almir, Valdemir e D. Conceição.*

*Aos meus parentes, especialmente minhas tias Élia, Idailva, Joaquina, Socorro e Valéria pelo incentivo e confiança depositada em minha pessoa.*

*A discografia de artista como: Coldplay, Seu Jorge, Engenheiros do Hawaii, Oasis, Red Hot Chili Peppers, Djavan e Legião Urbana.*

*A Ribeirão Preto pela mudança necessária de ambiente em que eu me encontrava...*

*E a todos que acreditaram e colaboraram direta ou indiretamente para a concretização de mais este degrau galgado na minha formação.*

*O meu sincero **MUITO OBRIGADO!!!***

*“É melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se, fazendo nada até o final.”*

Martin Luther King

*“Qualquer história sobre a consciência é relativa à conectividade que existe entre todas as coisas do universo. Por isso, mesmo de forma inconsciente, alegremo-nos frente à natureza gentil dos atos de amor.”*

Ana Beatriz Barbosa Silva

*“[...] Life on the other hand won't make you understand  
We're all part of the masterplan.”*

The Masterplan - Oasis

## RESUMO

Óleos alimentícios são substâncias insolúveis em água e líquidas em temperatura ambiente, predominantemente constituídos por triglicerídeos. Os óleos fazem parte de inúmeros produtos alimentícios, mas estão sujeitos a diversos processos de deterioração, entre os quais se destaca a oxidação lipídica, a qual torna este produto impróprio para o consumo. O processo de oxidação lipídica pode ser evitado através do uso de substâncias, que apresentam a capacidade de adiar, atrasar ou impedir esse fenômeno, denominadas de antioxidantes, entre eles os compostos fenólicos apresentam grande destaque. Os compostos fenólicos são substâncias oriundas do metabolismo secundário dos vegetais, como em diversas espécies vegetais amazônicas: *Byrsonima crassifolia*, *Euterpe oleracea* e *Inga edulis*. Com o objetivo de avaliar o potencial preventivo dos compostos fenólicos de origem sintética e natural contra o processo de oxidação lipídica, foi realizada uma cinética de oxidação de três óleos alimentícios, açaí, girassol e linhaça, a 60°C durante 11 dias. Foram realizados testes de caracterização físico-química dos óleos vegetais, e de teor de compostos fenólicos e de capacidade antioxidante dos extratos vegetais. Alíquotas de 20g de cada óleo foram adicionadas de 241 µM de palmitato de ascorbila e de 555 µM dos seguintes antioxidantes separadamente: BHA, padrão de miricetina, padrão de quercetina, e extratos vegetais de *B. crassifolia*, *E. oleracea* e *I. edulis*; e submetidas ao processo oxidativo. Avaliou-se a integridade das amostras de óleo a nível de formação de produtos primários e secundários de oxidação, e de perfil de ácidos graxos. Os resultados de caracterização físico-química dos óleos de girassol e linhaça indicaram que os mesmos encontravam-se de acordo com a legislação, não havendo padrões legais para o óleo de açaí. Os extratos vegetais apresentaram elevado teor de compostos fenólicos e de capacidade antioxidante. Entre os antioxidantes utilizados o padrão de miricetina apresentou a maior capacidade de retardar o processo oxidativo até o terceiro dia de ensaio a 60°C. Todavia, os mesmos resultados não foram observados para os óleos de girassol e linhaça. Os extratos de *B. crassifolia*, *E. oleracea* e *I. edulis* apesar do seu promissor perfil de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante, não foram eficientes na prevenção do processo de oxidação.

## ABSTRACT

Edible oils are insoluble in water and are liquid at room temperature, predominantly consisting of triglycerides. Oils are constituents of many food products, however they are susceptible to various deterioration processes, among which stands out the lipid oxidation, which makes this product improper for consume. The process of lipid oxidation can be avoid through the addition of antioxidants that show the capacity to defer, delay or prevent this phenomenon. Among the natural antioxidants, phenolic compounds are produced by the secondary metabolism of plants, in particular in Amazonian Plants such as *Byrsonima crassifolia*, *Inga edulis* and *Euterpe oleracea*. In order to evaluate the protective potential of phenolic compounds, from both natural and synthetic origin, against the lipid oxidation, was performed the kinetic of oxidation of three edible oils, açai, sunflower and linseed, at 60°C for 11 days after the remotion of its natural antioxidant compounds. Tests of physico-chemical characterization were performed on the vegetable oils, phenolic compounds content and antioxidant capacity of the plant extracts. Aliquots of 20g of each oil were added separately with: BHA, myricetin, quercetin, or plant extracts from *B. crassifolia*, *E. oleracea* e *I. edulis*; and submitted to oxidative process. The integrity of the oil samples was evaluated at the level of formation of primary and secondary oxidation products and fatty acid profile. The results of physico-chemical characterization of the oils indicated that they were in accordance with the legislation. The plant extracts showed a high content in phenolic compounds and antioxidant capacity. The remotion of the natural antioxidants from oil improved the lipid oxidation. Interestingly only myricetin standard was efficient to delay the oxidative process of the açai oil until the third day of test at 60°C. Nevertheless, the same results were not observed for sunflower and linseed oils. The extracts of *B. crassifolia*, *I. edulis* and *E. oleracea*, despite its promising profile of polyphenols, were not efficient against the oxidation process.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> CURVA DE AUTOXIDAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS, ONDE INICIAÇÃO (1), PROPAGAÇÃO (2) E TÉRMINO (3) CARACTERIZAM AS TRÊS FASES .....	24
<b>FIGURA 2.</b> ESTRUTURA QUÍMICA DOS ANTIOXIDANTES SINTÉTICOS. ....	30
<b>FIGURA 3.</b> ESTRUTURA QUÍMICA DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS. ....	31
<b>FIGURA 4.</b> ESTRUTURA QUÍMICA BÁSICA DOS FLAVONÓIDES. ....	33
<b>FIGURA 5.</b> ESTRUTURAS QUÍMICA RESPONSÁVEIS PELA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS FLAVONÓIDES.. ....	37
<b>FIGURA 6.</b> ESTRUTURAS QUÍMICAS DA QUERCETINA E MIRICETINA.....	38
<b>FIGURA 7.</b> ESTRUTURAS QUÍMICAS DA GALANGINA, CAMPFEROL, QUERCETINA E MIRICETINA. ....	41
<b>FIGURA 8.</b> ANEL DE SEIS MEMBROS ENTRE O GRUPO CETO (C4) E O GRUPO HIDROXILA (C5). ...	41
<b>FIGURA 9.</b> <i>BYRSONIMA CRASSIFOLIA</i> . ....	42
<b>FIGURA 10.</b> FOLHAS DE <i>INGA EDULIS</i> . ....	43
<b>FIGURA 11.</b> FRUTOS DO AÇAIZEIRO. ....	45
<b>FIGURA 12.</b> ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS ÓLEOS AÇAÍ, GIRASSOL E LINHAÇA ANTES E APÓS DA REMOÇÃO PARCIAL DOS ANTIOXIDANTES. ....	65
<b>FIGURA 13.</b> EVOLUÇÃO DO ÍNDICE DE PERÓXIDO DO ÓLEO DE AÇAÍ DURANTE A CINÉTICA.. ....	67
<b>FIGURA 14.</b> EVOLUÇÃO DO ÍNDICE DE PERÓXIDO DO ÓLEO DE GIRASSOL DURANTE A CINÉTICA	68
<b>FIGURA 15.</b> EVOLUÇÃO DO ÍNDICE DE PERÓXIDO DO ÓLEO DE LINHAÇA DURANTE A CINÉTICA. ....	69
<b>FIGURA 16.</b> EVOLUÇÃO DO VALO DE <i>P</i> -ANISIDINA DO ÓLEO DE AÇAÍ DURANTE A CINÉTICA.....	72
<b>FIGURA 17.</b> EVOLUÇÃO DO VALO DE <i>P</i> -ANISIDINA DO ÓLEO DE GIRASSOL DURANTE A CINÉTICA .....	73
<b>FIGURA 18.</b> EVOLUÇÃO DO VALO DE <i>P</i> -ANISIDINA DO ÓLEO DE LINHAÇA DURANTE A CINÉTICA	74

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1.</b> FONTE DE ÓLEOS VEGETAIS ALIMENTÍCIOS.....	19
<b>TABELA 2.</b> COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DE AÇAÍ.....	20
<b>TABELA 3.</b> COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DE GIRASSOL.....	22
<b>TABELA 4.</b> COMPOSIÇÃO DO ÓLEO DE LINHAÇA.....	23
<b>TABELA 5.</b> TAXA RELATIVA DE OXIDAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS.....	27
<b>TABELA 6.</b> GRUPOS DE COMPOSTOS FENÓLICOS.....	32
<b>TABELA 7.</b> ESTRUTURA QUÍMICA DAS PRINCIPAIS CLASSES DE FLAVONÓIDES.....	34
<b>TABELA 8.</b> ESTRUTURA QUÍMICA DOS ÁCIDOS FENÓLICOS.....	36
<b>TABELA 9.</b> DADOS DE CALIBRAÇÃO UTILIZADOS PARA QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS DOS ÓLEOS DE AÇAÍ, GIRASSOL E LINHAÇA, UTILIZANDO A METODOLOGIA DE PADRÃO INTERNO.....	52
<b>TABELA 10.</b> GRADIENTE DA FASE MÓVEL ESTABELECIDO PARA ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DOS EXTRATOS VEGETAIS.....	56
<b>TABELA 11.</b> DADOS DE CALIBRAÇÃO UTILIZADOS PARA QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS.....	57
<b>TABELA 12.</b> PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL PARA OS ÓLEOS DE AÇAÍ, GIRASSOL E LINHAÇA..	59
<b>TABELA 13.</b> CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DOS ÓLEOS VEGETAIS DE AÇAÍ, GIRASSOL E LINHAÇA.....	61
<b>TABELA 14.</b> CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS ENRIQUECIDOS DE <i>B. CRASSIFOLIA</i> , <i>I. EDULIS</i> E <i>E. OLERACEA</i> .....	63
<b>TABELA 15.</b> PERFIL DOS COMPOSTOS FENÓLICOS DOS EXTRATOS VEGETAIS.....	64
<b>TABELA 16.</b> PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE AÇAÍ DURANTE A CINÉTICA.....	75
<b>TABELA 17.</b> PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE GIRASSOL.....	76
<b>TABELA 18.</b> PERFIL DOS ÁCIDOS GRAXOS DO ÓLEO DE LINHAÇA.....	77

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>BHA</b>	Butil-hidroxi-anisol
<b>BHT</b>	Butil-hidroxi-tolueno
<b>CLAE</b>	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
<b>C18:1</b>	Ácido oleico
<b>C18:2</b>	Ácido linoleico
<b>C18:3</b>	Ácido linolênico
<b>DPPH</b>	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
$^3\text{O}_2$	Oxigênio triplete
$^1\text{O}_2$	Oxigênio singlete
$\text{O}_{\text{rmg}}$	<i>O</i> – ramnose-glicose
$\text{O}_{\text{glc}}$	<i>O</i> – glicose
<b>ORAC</b>	Oxygen Radical Absorbance Capacity
<b>PG</b>	Propil galato
<b>R•</b>	Radical alila
<b>ROO•</b>	Radical peroxil
<b>ROOH</b>	Hidroperóxido
<b>TBHQ</b>	Ter-butil-hidroquinona

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>18</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	18
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b>3</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>19</b>
3.1	ÓLEOS ALIMENTÍCIOS .....	19
3.1.1	Generalidades .....	19
3.1.2	Óleo de Açaí .....	20
3.1.3	Óleo de Girassol.....	21
3.1.4	Óleo de Linhaça .....	22
3.2	OXIDAÇÃO LIPÍDICA .....	23
3.2.1	Mecanismos da oxidação lipídica .....	24
3.2.1.1	Iniciação.....	25
3.2.1.2	Propagação.....	25
3.2.1.3	Término .....	26
3.2.2	Fatores que influenciam a oxidação lipídica .....	26
3.3	ANTIOXIDANTES .....	27
3.3.1	Classificação .....	28
3.3.1.1	Mecanismo de ação .....	28
3.3.1.1.1	Antioxidantes primários .....	28
3.3.1.1.2	Antioxidantes secundários.....	30
3.3.1.2	Origem .....	30
3.3.1.3	Antioxidantes sintéticos.....	30
3.3.1.4	Antioxidantes naturais .....	30
3.4	COMPOSTOS FENÓLICOS .....	31
3.4.1	Generalidades .....	31
3.4.2	Flavonóides.....	32
3.4.3	Compostos fenólicos como agentes antioxidantes.....	35
3.4.3.1	Generalidades .....	35
3.4.3.2	Relação estrutura-reatividade dos compostos fenólicos como antioxidantes...35	

3.4.3.3	Compostos fenólicos naturais como agentes antioxidantes em óleos alimentícios.....	38
3.4.4	<b>Interação dos compostos fenólicos com compostos lipídicos .....</b>	<b>40</b>
3.5	ESPÉCIES VEGETAIS .....	42
3.5.1	<i>Byrsonima crassifolia</i> .....	42
3.5.2	<i>Inga edulis</i> .....	43
3.5.3	<i>Euterpe oleracea</i> .....	44
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>47</b>
4.1	MATÉRIAS-PRIMAS .....	47
4.1.1	<b>Obtenção do óleo de açaí (<i>Euterpe oleracea</i>).....</b>	<b>47</b>
4.2	CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS ALIMENTÍCIOS .....	48
4.2.1	Índice de refração .....	48
4.2.2	Determinação da viscosidade.....	48
4.2.3	Determinação da densidade.....	48
4.2.4	Determinação da cor .....	48
4.2.5	Índice de acidez.....	48
4.2.6	Índice de saponificação .....	49
4.2.7	Índice de peróxido .....	49
4.2.8	Capacidade antioxidante pelo método DPPH•.....	49
4.2.9	Perfil dos ácidos graxos dos óleos alimentícios .....	50
4.3	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS .....	52
4.3.1	Compostos fenólicos totais .....	53
4.3.2	Flavonóis totais .....	53
4.3.3	Flavanóis Totais .....	54
4.3.4	Capacidade antioxidante pelo método ORAC .....	54
4.3.5	Perfil cromatográfico dos extratos vegetais .....	55
4.4	REMOÇÃO DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS DOS ÓLEOS ALIMENTÍCIOS	58
4.5	CINÉTICA DE ESTUDO .....	58
4.5.1	Procedimentos.....	58
4.5.2	Perfil cromatográfico dos ácidos graxos dos óleos alimentícios.....	59
4.5.3	Avaliação da oxidação primária.....	59
4.5.4	Avaliação de oxidação secundária .....	59
4.6	TRATAMENTO ESTATÍSTICO .....	59

<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>61</b>
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS ALIMENTÍCIOS .....	61
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS .....	62
5.3	REMOÇÃO DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS DOS ÓLEOS ALIMENTÍCIOS	65
5.4	CINÉTICA DE OXIDAÇÃO DOS ÓLEOS .....	66
5.4.1	Produtos primários de oxidação.....	66
5.4.2	Produtos secundários de oxidação .....	70
5.4.3	Perfil dos ácidos graxos.....	74
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>79</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>80</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Óleos alimentícios são substâncias insolúveis em água e líquidas em temperatura ambiente, predominantemente constituídos por triglicerídeos, bem como pequenas concentrações de substâncias de matérias de natureza não glicéridica (BRASIL, 2005b; O'BRIEN, 2009). São alimentos extraídos a partir de grãos ou sementes, que possuem cultivo em diversas partes do planeta (GUNSTONE, 2002, BRASIL, 2005b; O'BRIEN, 2009).

Os óleos fazem parte de inúmeros produtos alimentícios de elevado consumo, mas estão sujeitos a diversos processos de deterioração, entre os quais se destaca a oxidação lipídica (O'BRIEN, 2009). Este processo é responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores desagradáveis, os quais tornam os mesmos impróprios para o consumo, além de provocar outras alterações que irão afetar a qualidade nutricional do produto (CHOE e MIN, 2006; ARAUJO, 2008; POULLI, MOUSDIS e GEORGIU, 2009).

O processo de oxidação lipídica pode ser evitado ou bloqueado através do uso de substâncias conhecidas como antioxidantes, os quais são descritos como compostos presentes em baixas concentrações quando comparadas ao substrato oxidável, que apresentam a capacidade de adiar, atrasar ou impedir os processos oxidativos (DECKER, 2008; MATKOWSKI, 2008). Entre os compostos antioxidantes conhecidos, os compostos fenólicos apresentam grande destaque.

A atividade antioxidante dos compostos fenólicos é quimicamente atribuída à capacidade de sequestro dos radicais livres, doação de átomos de hidrogênio ou elétron, pela ação de quelar íons metálicos, ou pela inibição de enzimas oxidativas (PIETTA, 2000; PAIXÃO et al., 2007; MAQSOOD e BENJAKUL, 2010).

Os compostos fenólicos são substâncias oriundas do metabolismo secundário dos vegetais, os quais constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos já descritos (TAIZ e ZEIGER, 2004; SILVA, 2006; SOUZA, 2007a). Podem ser facilmente encontrados nas frutas, cascas, raízes, caule, flores de vegetais e produtos como chocolate, chá, cerveja e vinho (SOUZA, 2007a).

Algumas espécies vegetais tornaram-se alvo de estudos em virtude de sintetizarem em quantidade considerável os compostos fenólicos. Entre estas espécies *Byrsonima crassifolia*, *Inga edulis* e *Euterpe oleracea*, que fazem parte do estuário amazônico, vêm se destacando

por esta propriedade (ROGEZ, 2000; COÏSSON et al., 2005; ROCHA et al., 2007, SILVA et al., 2007; SOUZA et al., 2007b).

As propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos sugerem sua possível utilização a fim de retardar os processos oxidativos em sistemas alimentícios (O'CONNELL e FOX, 2001; GRAMZA e KORCZAK, 2005; BOUAZIZ et al., 2008). Desta forma, este trabalho propôs avaliar a estabilidade oxidativa de três óleos alimentícios, açaí, girassol e linhaça, submetidos à temperatura de 60°C em estufa e na presença de compostos fenólicos de origem natural e sintética.

O comportamento oxidativo dos diferentes óleos foi verificado ao nível de produtos primários e secundários, assim como o perfil de ácidos graxos de cada um dos óleos objeto de estudo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a estabilidade oxidativa dos óleos de açaí, girassol e linhaça a 60°C na presença de padrões de compostos fenólicos ou extratos vegetais enriquecidos em compostos fenólicos naturais e sintéticos.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar físico-quimicamente os óleos de açaí, girassol e linhaça;
- Caracterizar os extratos de *Byrsonima crassifolia*, *Inga edulis* e *Euterpe oleracea* quanto ao teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante;
- Executar a cinética de oxidação a 60°C dos três óleos em estudo na presença de BHA, padrão de miricetina, padrão de quercetina, e extratos vegetais lipofílicos de *Byrsonima crassifolia*, *Inga edulis* e *Euterpe oleracea*, durante 11 dias;
- Avaliar o comportamento oxidativo dos diferentes óleos ao nível de produtos primários e secundários de oxidação, e o perfil de ácidos graxos.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ÓLEOS ALIMENTÍCIOS

##### 3.1.1 Generalidades

Óleos alimentícios são substâncias insolúveis em água e líquidas em temperatura ambiente, que são predominantemente constituídos por triglicerídeos, apresentando em alguns casos pequenas concentrações de substâncias não triglicerídeas como: esteróis, terpenos, fosfolipídios, carotenóides e tocoferóis (BRASIL, 2005; O'BRIEN, 2009).

Os óleos vegetais utilizados para fins nutricionais são obtidos a partir de grãos ou sementes (Tabela 1), as quais são cultivadas em diversas partes do planeta, sendo que os principais processos de obtenção são: a extração por prensagem ou a extração com auxílio de solvente (GUNSTONE, 2002).

**Tabela 1.** Fonte de óleos vegetais alimentícios

Óleo	Porcentagem de lipídios na matriz	Locais de produção
Canola	40-45%	Canadá, China, Índia, França, Áustria, Reino Unido, Alemanha, Polônia, Bélgica, Itália, Irlanda, Grécia, Portugal, Espanha, Dinamarca, Estados Unidos, entre outros.
Milho	3,1-5,7%	Estados Unidos, México, Canadá, Japão, China, Brasil, África do Sul, Argentina, Rússia, Bélgica, Itália, França, Alemanha, Espanha e Reino Unido.
Algodão	18-20%	China, Rússia, Estados Unidos, Índia, Paquistão, Brasil, Egito, Turquia e Austrália.
Girassol	35-45%	Rússia, Argentina, Áustria, França, Itália, Alemanha, Espanha, Estados Unidos e Reino Unido.
Linhaça*	30-40%	Estados Unidos, China, Índia, Rússia, Ucrânia, Argentina e Canadá.
Amendoim	45-50%	China, Índia, Nigéria, Estados Unidos, Senegal, África do Sul e Argentina.
Soja	18-20%	Estados Unidos, Brasil, China, Argentina, Índia, Paraguai e Bolívia.
Coco	65-68%	Filipinas, Indonésia, Índia, México, Malásia, Nova Guiné.
Oliva	15-35%	Espanha, Portugal, Itália, Grécia, Argentina, Chile, Marrocos, entre outros.

Fontes: GUNSTONE, 2002\* e O'BRIEN, 2009.

Óleos e gorduras fazem parte de inúmeros produtos alimentícios de elevado consumo, tais como: leite, cremes, maioneses, óleos propriamente ditos, entre outros. Em virtude disto,

o estudo de suas propriedades físico-químicas assim como de suas características de solubilidade se tornam de suma importância (O'BRIEN, 2009).

Os óleos apresentam um papel fundamental na alimentação humana. Entre os três macronutrientes da dieta humana os lipídios (óleos e gorduras) apresentam o maior valor energético (9 Kcal/g), e agem como veículo para absorção das vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) e das provitaminas. Também são fontes de ácidos graxos essenciais como os ácidos linoléico, linolênico e araquidônico, além de contribuírem para a palatabilidade dos alimentos (CASTRO et al., 2004; ARAUJO, 2008; O'BRIEN, 2009).

### 3.1.2 Óleo de Açaí

Em termos quantitativos, os lipídios são os macronutrientes mais representativos na polpa dos frutos de *E. oleracea*, representando cerca de 50% dos sólidos totais. Tal característica faz com que o óleo contido no açaí represente cerca de 90 % das calorias contidas na bebida açaí (ROGEZ, 2000; NASCIMENTO et al., 2008).

O perfil de ácidos graxos do óleo açaí podem ser observados na Tabela 2. Ao se verificar o perfil de ácidos graxos, nota-se um alto teor de ácidos graxos mono e poliinsaturados, além de um considerável teor de ácidos saturados, assim como esteróis e tocoferóis (ROGEZ, 2000).

**Tabela 2.** Composição do óleo de açaí

Componente	Rogez, 2000.	Schauss et al., 2006.	Pacheco-Palencia, Talcott e Talcott, 2008.	Nascimento et al., 2008.
Ácidos graxos totais (%)				
Palmítico (C16:0)	25,9	24,1	22,0	26,8
Esteárico (C18:0)	1,6	1,6	2,0	1,7
Aracídico (C20:0)	-	< 0,1	2,5	0,1
Palmitoléico (C16:1)	4,9	4,3	2,0	5,0
Oléico (C18:1)	54,9	56,2	60,0	51,5
Linoléico (C18:2)	11,5	12,5	12,0	8,9
Linolênico (C18:3)	1,1	0,8	Traços	0,8

O óleo contido na polpa dos frutos de *E. oleracea* apresenta um perfil de ácidos graxos particularmente interessante do ponto de vista nutricional, semelhante ao de azeite de oliva,

podendo desta forma propiciar ao consumidor a ingestão de ácidos graxos mono e poliinsaturados nas proporções recomendadas. Entretanto, salienta-se um baixo teor de ácido linolênico, o qual é essencial e deficiente na dieta da maioria dos indivíduos. Todavia, este perfil de ácidos graxos mono e poliinsaturados do óleo de açaí, mostra-se como um ponto desfavorável em virtude de sua fácil oxidação e portanto, rancificação (ROGEZ, 2000).

Potencialmente o óleo do açaí apresenta-se como um subproduto valioso dado as suas características sensoriais únicas, nutricionais e os potenciais benefícios à saúde (SCHAUSS et al., 2006; PACHECO-PALENCIA, TALCOTT e TALCOTT, 2008). Segundo Nascimento et al. (2008) existem poucos dados na literatura científica sobre uma caracterização mais abrangente sobre o óleo de açaí, fato este que motiva novos trabalhos a respeito deste tema.

### 3.1.3 Óleo de Girassol

O girassol (*Helianthus annuus*) pertence à família das Compositae. É uma planta nativa do continente americano, mas após sua domesticação foi distribuída por vários países do continente europeu; sendo que atualmente os países que faziam parte da antiga União Soviética são os maiores produtores. O cultivo de girassol é a quarta maior fonte de óleo alimentício do mundo, depois da soja, palma e canola (GUPTA, 2002; KANYA, RAO e SASTRY, 2007; CUEVAS, RODRIGUES e MEIRELLES, 2009).

A produção anual é de aproximadamente 30 milhões de toneladas ao ano (GUPTA, 2002; KANYA, RAO e SASTRY, 2007). A demanda por este óleo vegetal aumentou acentuadamente na década de 80, quando houve grande apelo pelo consumo de ácidos graxos poliinsaturados em produtos alimentícios, como a margarina, e por seus benefícios à saúde; fato esse que justifica a classificação deste óleo alimentício como saudável (GUPTA, 2002).

As sementes de girassol apresentam um elevado teor de compostos lipídios, chegando até a 40 % do seu peso. O óleo extraído de suas sementes apresenta um perfil lipídico diferenciado, o que levou sua utilização na indústria alimentícia, de cosmético e até de combustíveis (CUEVAS, RODRIGUES e MEIRELLES, 2009). Quanto ao seu perfil de ácidos graxos, o óleo de girassol apresenta uma excelente composição (Tabela 3), no que diz respeito à presença de ácidos graxos poliinsaturados, notadamente o ácido linoléico (GUPTA, 2002, BENSMIRA et al., 2007).

**Tabela 3.** Composição do óleo de girassol

Componente	Gupta, 2002.	Jorge et al., 2005.
Ácidos graxos totais (%)		
Láurico (C12:0)	0,5	-
Mirístico (C14:0)	0,2	-
Palmítico (C16:0)	6,8	6,66
Esteárico (C18:0)	4,7	4,32
Araquídico (C20:0)	0,4	-
Palmitoléico (C16:1)	0,1	-
Oléico (C18:1)	18,6	21,09
Linoléico (C18:2)	68,2	67,78
Linolênico (C18:3)	0,5	0,15

O girassol contém uma série de outros componentes além do óleo, os quais se apresentam em baixas concentrações, entre estes são incluídos proteínas, tocoferóis, esteróis e ésteres de esteróis, ésteres, fosfolípidios, metais, ceras e carotenóides (GUPTA, 2002).

### 3.1.4 Óleo de Linhaça

A linhaça (*Linum usitatissimum*) é uma das mais importantes oleaginosas do mundo, em virtude do seu rendimento, aproximadamente 40% de lipídios, e do seu perfil de ácidos graxos. Esta espécie possui seu maior cultivo em países como: Canadá, Argentina, Estados Unidos, China e Índia (BRÜHL et al., 2007; ZHANG et al., 2008).

No passado, a linhaça era utilizada como fonte de óleo para fins industriais como a produção de tintas e cosméticos. No entanto, nas últimas décadas esta oleaginosa vem desempenhando um papel importante nos segmentos nutricionais e farmacêuticos, em virtude de seu alto teor em ácidos graxos  $\omega$ -3 (ZHANG et al., 2008).

Os componentes nutricionais da linhaça são o óleo, proteína, lignanas, fibras solúveis, minerais e vitaminas. O óleo de linhaça é considerada a mais rica fonte de ácidos graxos  $\omega$ -3 da dieta humana, na forma de ácido linolênico (C18:3) (Tabela 4), que representa por si só aproximadamente 50% do total de ácidos graxos. Este percentual é 5,5 vezes maior do que nas fontes mais próximas (KOCHHAR, 2002; BRÜHL et al., 2007; ZHANG et al., 2008).

**Tabela 4.** Composição do óleo de linhaça.

Componente	Erhan e Adhvaryu, 2005.	Brühl et al., 2007.	Tuberoso et al., 2007.
Ácidos graxos totais (%)			
Mirístico (C14:0)	-	Traços	-
Palmítico (C16:0)	6,0	6,0	4,9
Esteárico (C18:0)	2,5	2,5	3,7
Aracídico (C20:0)	0,5	0,5	0,1
Palmitoléico (C16:1)	-	0,1	Traços
Oléico (C18:1)	19,0	19,0	21,3
Linoléico (C18:2)	24,1	24,1	18,1
Linolênico (18:3)	47,4	47,9	50,6

Em virtude da composição privilegiada, estudos anteriores demonstraram que o óleo de linhaça tem efeito positivo sobre a minimização de várias doenças, a exemplo da hiperlipidemia, o tumor de cólon, câncer de mama e aterosclerose (ZHANG et al., 2008).

### 3.2 OXIDAÇÃO LIPÍDICA

A oxidação lipídica é um dos processos de deterioração dos alimentos responsável pelo desenvolvimento de sabores e odores indesejáveis, os quais tornam os mesmos impróprios para o consumo. Este processo também é responsável por provocar outras alterações que irão afetar a qualidade nutricional, devido à degradação de vitaminas lipossolúveis e de ácidos graxos essenciais, mas também a integridade e segurança dos alimentos, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (CHOE e MIN, 2006; ARAUJO, 2008; POULLI, MOUSDIS e GEORGIU, 2009).

Os diferentes mecanismos químicos envolvendo espécies reativas de oxigênio, como a autooxidação e a fotoxidação, são frequentemente responsáveis pela oxidação de materiais lipídicos alimentícios durante o processamento e estocagem (CHOE e MIN, 2006). A autooxidação parece ser um mecanismo essencial da oxidação lipídica, pois gera principalmente hidroperóxidos e compostos voláteis, através de um processo que apresenta três diferentes fases (LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007), as quais serão descritas no item 3.2.1.

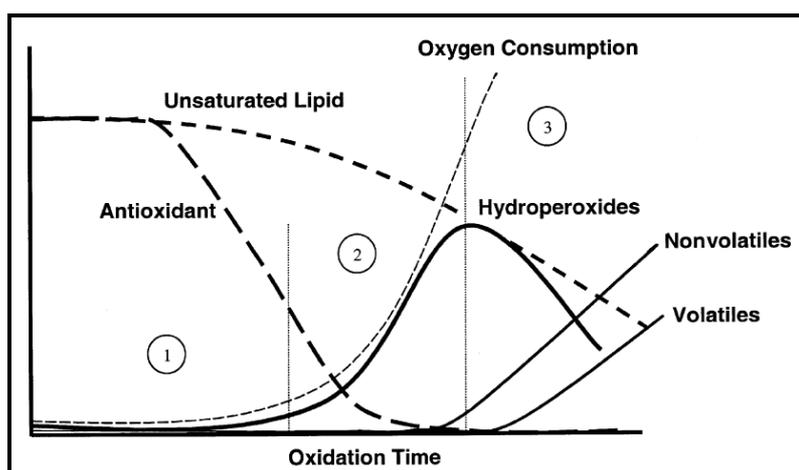
A autooxidação trata-se de um fenômeno complexo, induzido pelo oxigênio em presença de agentes iniciadores, tais como: calor, radicais livres, pigmentos fotossensíveis e

íons metálicos. Este tipo de reação de oxidação pode ocorrer através de três vias diferentes: (i) oxidação não enzimática mediada por radicais livres (autooxidação), (ii) oxidação não enzimática e não radicalar mediada pela luz (fotooxidação), e (iii) a oxidação enzimática. Os dois primeiros tipos de oxidação descritos anteriormente consistem em uma combinação de reações envolvendo o oxigênio tripleto ( $^3\text{O}_2$ ), que corresponde a um estado excitado do oxigênio singlete ( $^1\text{O}_2$ ) e o último ocorre por ação de enzimas como a lipoxigenase (RAMALHO e JORGE, 2006; LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007).

O entendimento da estabilidade oxidativa de óleos, gorduras e produtos derivados de lipídios depende de fatores como: as condições e a temperatura de exposição, o uso pretendido para estes produtos e a expectativa da vida de prateleira (O'BRIEN, 2009).

### 3.2.1 Mecanismos da oxidação lipídica

A oxidação lipídica ocorre através de um mecanismo complexo que envolve ácidos graxos insaturados e agentes conhecidos como iniciadores das reações de oxidação; processo este que é frequentemente descrito como autooxidação (Figura 1). A autooxidação envolve as reações em cadeia dos radicais livres, as quais podem ser descritas através de três distintas fases: iniciação, propagação e término (KOLAKOWSKA, 2002; ARAUJO, 2008; ERKAN, AYRANCI e AYRANCI, 2009).



**Figura 1.** Curva de autooxidação de ácidos graxos, onde iniciação (1), propagação (2) e término (3) caracterizam as três fases (KAMAL-ELDIN, MÁKINEN e LAMPI, 2003).

### 3.2.1.1 Iniciação

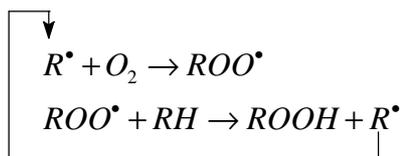
Do ponto de vista químico, a etapa da iniciação ou fase de latência caracteriza-se pela formação dos radicais livres, os quais atacam as moléculas orgânicas abstraindo um átomo de hidrogênio de um grupamento metil adjacente a uma dupla ligação, deixando um elétron desemparelhado e desta forma gerando compostos radicalares como o grupo alila ( $R\bullet$ ), conforme pode ser observado genericamente na Reação 1 (LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007; REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008; BELITZ, GROSCH e SCHIEBERLE, 2009).



Essa etapa pode ser catalisada por ação de agentes como luz, calor, íons metálicos, radicais livres e metaloproteínas; e sua verificação se torna muitas vezes difícil em virtude da baixa concentração dos agentes que a promovem (KAMAL-ELDIN, MÄKINEN e LAMPI, 2003; CHOE e MIN, 2006; LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007; REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).

### 3.2.1.2 Propagação

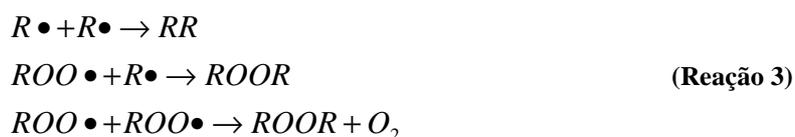
Na etapa de propagação, o radical formado na etapa da iniciação sofre rearranjo molecular seguido de adição de oxigênio triplete ( $^3O_2$ ), originando diferentes espécies de radicais, incluindo o radical peroxil ( $ROO\bullet$ ). Este radical formado reage com outra molécula orgânica produzindo hidroperóxido ( $ROOH$ ) e outro radical alila (Reação 2), que retroalimenta a reação, pois forma outro radical que continua o processo de oxidação (KAMAL-ELDIN, MÄKINEN e LAMPI, 2003; LAGUERRE, LECOMTE; VILLENEUVE, 2007).



(Reação 2)

### 3.2.1.3 Término

Considerada a fase final do processo de oxidação, a etapa do término é marcada pela interrupção das reações em cadeia, pois há o consumo dos compostos orgânicos do meio. Os radicais livres formados ligam-se uns aos outros formando compostos estáveis, genericamente representado como “RR” e “ROOR” na Reação 3 (WHEATLEY, 2000; LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007).



Nesta etapa, o processo de oxidação continua transformando os produtos primários da oxidação em produtos secundários. Os produtos primários sofrem decomposição através de mecanismo de quebra da dupla ligação adjacente do grupo peróxil, direcionando a formação de aldeídos, álcoois, cetonas voláteis entre outros produtos (KAMAL-ELDIN, MÄKINEN e LAMPI, 2003; LAGUERRE, LECOMTE e VILLENEUVE, 2007; BELITZ, GROSCH e SCHIEBERLE, 2009).

## 3.2.2 Fatores que influenciam a oxidação lipídica

O fenômeno de oxidação dos lipídios depende de mecanismos reacionais diversos e extremamente complexos, os quais estão relacionados com o tipo de estrutura lipídica e o meio no qual os lipídios envolvidos se encontram (SILVA, BORGES e FERREIRA, 1999).

A estabilidade oxidativa de óleos e produtos que contenham lipídios é a resistência que os mesmos apresentam durante o processamento e/ou armazenamento, tornando-se um indicador importante para determinar a qualidade do óleo e sua vida de prateleira (CHOE e MIN, 2006).

Os diversos fatores que influenciam a estabilidade oxidativa de óleos e gorduras são: a distribuição, geometria e número das insaturações dos ácidos graxos, presença de compostos pró-oxidantes, a presença de compostos antioxidantes, de íons metálicos, de pigmentos fotossensíveis, de umidade, de enzimas e a exposição ao oxigênio, luz e temperatura (CHOE e MIN, 2006; ARAUJO, 2008; O'BRIEN, 2009). Tais fatores combinados afetam o processo de

oxidação de óleos e gorduras, sendo também difícil de identificar seus efeitos individuais (CHOE e MIN, 2006).

Quanto às características lipídicas, a oxidação pode ocorrer apenas na porção insaturada de ácidos graxos na molécula do triglicerídeo, pois a presença de duplas ligações é necessária para a oxidação ocorrer em condições normais. Os ácidos graxos que apresentam a geometria do tipo *cis* oxidam mais facilmente que os seus estereoisômeros *trans*. As duplas ligações conjugadas são mais reativas que as não conjugadas, e ácidos graxos poliinsaturados são mais reativos que os saturados (CHOE e MIN, 2006; O'BRIEN, 2009).

A oxidabilidade dos ácidos graxos insaturados pode ser estimada pelo aumento linear na taxa de oxidação com o aumento do número de grupos metileno ativo localizado entre duas ligações duplas. Dessa relação, a oxidabilidade de cada ácido graxo poli-insaturado é aumentada cerca de duas vezes para cada grupo de metileno ativo, ou seja, quanto mais insaturado é um ácido graxo, menor será sua estabilidade oxidativa, conforme descrito na Tabela 5 (CHOE e MIN, 2006; O'BRIEN, 2009).

**Tabela 5.** Taxa relativa de oxidação dos ácidos graxos.

Ácido Graxo	Nº de grupos metileno	Taxa relativa de oxidação
Oléico (C18:1)	0	1
Linoléico (C18:2)	1	10
Linolênico (C18:3)	2	20
Araquidônico (C20:4)	3	40
Eicosapentaenóico (C20:5)	4	80
Docosahexaenóico (C22:6)	5	160

Fonte: O'Brien, 2009.

Carotenóides, tocoferóis, tocotrienóis e alguns compostos fenólicos naturais ou adicionados a óleos e gorduras podem inibir ou impedir o processo de oxidação durante o processamento e/ou estocagem (CHOE e MIN, 2006).

### 3.3 ANTIOXIDANTES

Em termos gerais, os antioxidantes são descritos como compostos presentes em baixas concentrações quando comparadas ao substrato oxidável, e que apresentam a capacidade de adiar, atrasar ou impedir os processos oxidativos (DECKER, 2008; MATKOWSKI, 2008).

Nos alimentos, os antioxidantes atrasam o início da oxidação ou reduzem a velocidade na qual ela procede. Estas substâncias podem ocorrer como constituintes naturais dos alimentos, como também podem ser intencionalmente adicionados aos produtos ou formados durante o processamento. O seu papel não é o aumento ou a melhoria das qualidades dos alimentos, mas sim, promover à manutenção da qualidade, aumentar a gama de ingredientes para a formulação de novos produtos alimentícios, aumentar a vida de prateleira dos mesmos e reduzir a toxicidade causada por produtos de oxidação (DECKER, 2008; REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).

Um antioxidante para ser utilizado como aditivo em alimentos deve apresentar as seguintes características: não afetar a cor, sabor e odor, ter um custo baixo, ser atóxico, eficaz em baixas concentrações, estável e capaz de resistir ao processamento. A escolha do uso do antioxidante depende da compatibilidade do mesmo, das características do produto e das orientações das agências reguladoras (REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).

### **3.3.1 Classificação**

Os compostos antioxidantes podem ser classificados quanto ao seu mecanismo de ação ou sua origem.

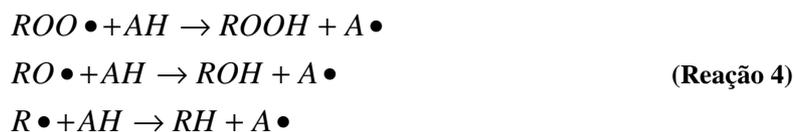
#### **3.3.1.1 Mecanismo de ação**

A respeito do mecanismo de ação, os antioxidantes podem ser classificados pelo mecanismo de ação em primários e secundários. Alguns antioxidantes apresentam mais de um mecanismo de atividade e são muitas vezes descritos como antioxidantes de função múltipla. Os antioxidantes variam muito em suas ações, pois tais substâncias são capazes de funcionar em todas as fases da reação do processo de oxidação (DECKER, 2008; REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).

##### *3.3.1.1.1 Antioxidantes primários*

Os antioxidantes primários também chamados do tipo 1, ou antioxidantes de quebra de cadeia são aqueles aceptores de radicais livres que retardam ou inibem a etapa de iniciação ou interrompem a etapa de propagação de auto-oxidação, através da doação de um átomo de

hidrogênio à moléculas radicalares, interrompendo, desta forma, a reação em cadeia e formando produtos estáveis conforme descrito na Reação 4; onde:  $ROO\bullet$ ,  $RO\bullet$ ,  $R\bullet$  são espécies reativas de oxigênio,  $AH$  é o antioxidante e  $A\bullet$  é o radical antioxidante (MADHAVI, DESHPANDE e SALUNKHE, 1995; ARAUJO, 2008; REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).



O radical antioxidante ( $A\bullet$ ) produzido pela doação do átomo de hidrogênio tem uma reatividade muito baixa com o substrato oxidável, fato este que reduz a taxa de propagação do processo de oxidação. O radical antioxidante é estabilizado pelo deslocamento do elétron desemparelhado, o que torna este composto estável em termos de ressonância. Os radicais antioxidantes também são capazes de participar de reações de terminação com peróxido e outros radicais antioxidantes. A formação de dímeros de antioxidantes (dimerização) interrompe efetivamente o mecanismo de cadeia da oxidação (REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).

Antes do início da auto-oxidação, deve haver um período de indução em que os antioxidantes são consumidos e os radicais livres são gerados. Neste momento, os antioxidantes primários são mais eficazes, em virtude do seu principal mecanismo de ação ser o seqüestro dos radicais livres (REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).

Os antioxidantes primários mais utilizados em alimentos são compostos sintéticos. Exemplos de antioxidantes primários incluem: o butil-hidroxi-tolueno (BHT), butil-hidroxi-anisol (BHA), ter-butil-hidroquinona (TBHQ), propil galato (PG). No entanto, alguns componentes presentes naturalmente nos alimentos também atuam como antioxidantes primários. Os tocoferóis e os carotenóides fazem parte de outro grupo de compostos naturais que apresentam atividade antioxidante primária, embora seus mecanismos de ações sejam diferentes daqueles apresentados pelos compostos sintéticos (REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).

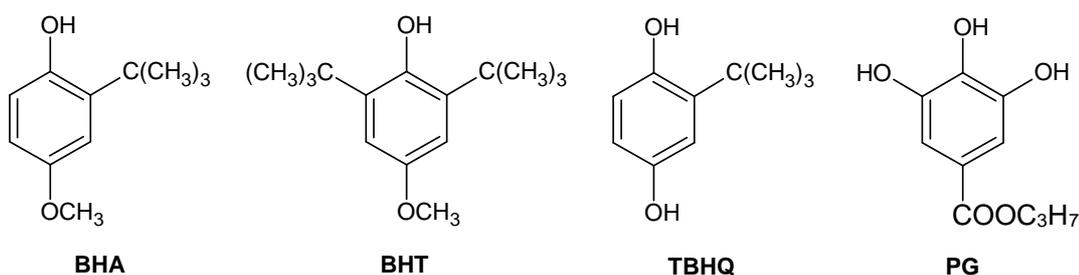
### 3.3.1.1.2 Antioxidantes secundários

Os antioxidantes secundários, também chamados do tipo 2, ou preventivos são aqueles que utilizam numerosos mecanismos possíveis. Estes antioxidantes retardam as taxas do processo de oxidação, entretanto não possuem a capacidade de converter os radicais livres a produtos estáveis como os antioxidantes primários. Os Antioxidantes secundários podem: quelar íons metálicos pró-oxidantes, desativando-os; reabastecer hidrogênio dos antioxidantes primários, decompor hidroperóxidos a espécies não radicalares, desativar o oxigênio singlete, além de absorverem a radiação ultravioleta. Estes antioxidantes são muitas vezes referidos como sinérgicos porque promovem a atividade antioxidante conjuntamente com os antioxidantes primários (RAMALHO e JORGE, 2006; ARAUJO, 2008; REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).

### 3.3.1.2 Origem

### 3.3.1.3 Antioxidantes sintéticos

Os antioxidantes sintéticos apresentam uma estrutura fenólica, que permite aos mesmos doar um próton ao radical livre, regenerando assim compostos oxidados, interrompendo o processo de oxidação. Exemplos dessa classe de antioxidantes são: o BHT, BHA, TBHQ e PG (Figura 2), etoxiquina, entre outros (RAMALHO e JORGE, 2006; REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).



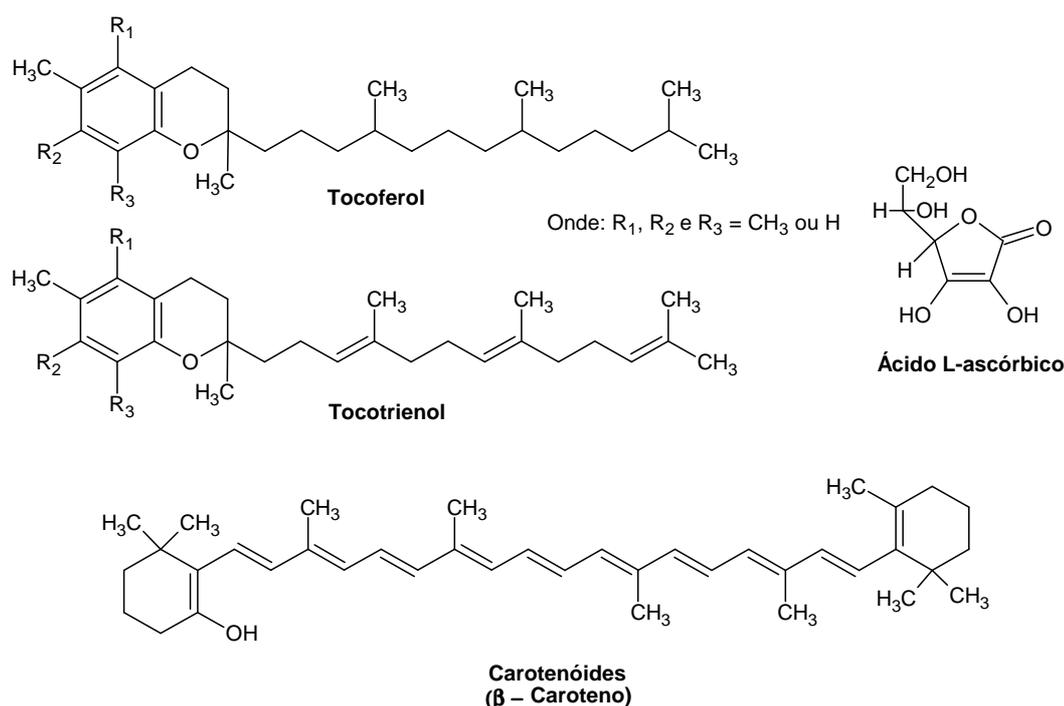
**Figura 2.** Estrutura química dos antioxidantes sintéticos.

### 3.3.1.4 Antioxidantes naturais

Os antioxidantes naturais são aqueles encontrados no organismo humano (endógenos), como as enzimas glicose oxidase, superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase; ou em fontes vegetais, dos quais se destacam o ácido ascórbico e os compostos fenólicos, sendo

majoritariamente hidrofílicos, e os tocoferóis, tocotrienóis e os carotenóides de natureza lipofílica (Figura 3) (RAMALHO e JORGE, 2006; REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).

Os antioxidantes naturais são comercialmente importantes e apreciados pelos consumidores; e entre estes compostos, o ácido ascórbico e os tocoferóis são os de maior destaque (REISCHE, LILLARD e EITENMILLER, 2008).



**Figura 3.** Estrutura química dos antioxidantes naturais.

### 3.4 COMPOSTOS FENÓLICOS

#### 3.4.1 Generalidades

Os compostos fenólicos são substâncias oriundas do metabolismo secundário dos vegetais, os quais constituem um grupo quimicamente heterogêneo, com aproximadamente 10.000 compostos descritos pela literatura (TAIZ e ZEIGER, 2004; SILVA, 2006; SOUZA, 2007a), alguns solúveis apenas em solventes orgânicos, outros são ácidos carboxílicos e glicosídeos solúveis em água e há ainda aqueles que são grandes polímeros insolúveis (TAIZ e ZEIGER, 2004). Podem ser facilmente encontrados nas frutas, cascas, raízes, caule e flores de vegetais, bem como em produtos processados como chocolate, chá, cerveja e vinho (SOUZA, 2007a).

Tais substâncias são caracterizadas pela diversidade de estruturas químicas, as quais estão associadas às duas rotas bioquímicas envolvidas nas suas sínteses, a do ácido chiquímico e a do ácido malônico (TAIZ e ZEIGER, 2004; SOUZA, 2007a). Estes possuem composição química básica com pelo menos um anel aromático ( $C_6$ ) contendo um ou vários grupos hidroxila (VERMERRIS e NICHOLSON, 2006; SOUZA, 2007a).

Os compostos fenólicos incluem fenóis simples, ácidos benzóicos, ácidos cinâmicos, estilbenos, flavonóides, bi-flavonóides, proantocianidinas, entre outros grupos conforme apresentado na Tabela 6 (SILVA, 2006; SOUZA, 2007a).

**Tabela 6.** Grupos de compostos fenólicos.

Grupos	Estrutura
Fenóis simples	$C_6$
Ácidos benzóicos	$C_6-C_1$
Acetofenonas, Ácidos fenilacéticos	$C_6-C_2$
Ácidos cinâmicos	$C_6-C_3$
Naptoquinonas	$C_6-C_4$
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos	$C_6-C_2-C_6$
Flavonóides, Isoflavonóides	$C_6-C_3-C_6$
Lignanias	$(C_6-C_3)_2$
Bi-flavonóides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_n$
Taninos condensados ou proantocianidinas	$(C_6-C_3-C_6)_n$

Fonte: Balasundram, Sundram e Samman, 2006.

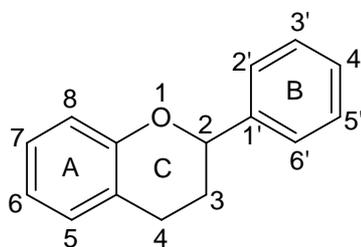
Entre os grupos dos compostos fenólicos, a literatura reporta que os ácidos fenólicos e os flavonóides são aqueles que apresentam maior atividade antioxidante (HENDRICH, 2006; STOBIECKI e KACHLICKI, 2006).

### 3.4.2 Flavonóides

Os flavonóides são compostos de baixo peso molecular, largamente distribuídos no reino vegetal com mais de 6.500 estruturas identificadas, encontram-se presentes em frutas, folhas, sementes, cascas e flores das plantas na forma de glicosídeos ou agliconas, atuando no crescimento, desenvolvimento, proteção contra agentes patogênicos e raios ultravioletas (HENDRICH, 2006; STOBIECKI e KACHLICKI, 2006).

Os flavonóides apresentam um amplo espectro de efeitos bioquímicos e farmacológicos, incluindo ações antioxidante, antiinflamatória, antiplaquetária, antitrombótica e antialérgica (MIEAN e MOHAMED, 2001).

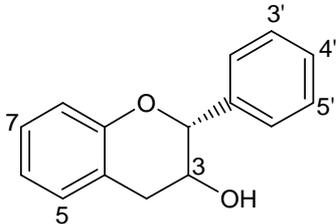
A estrutura química básica dos flavonóides consiste em dois anéis aromáticos, denominados anel “A” e “B”, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado anel “C”. Eles contêm 15 átomos de carbono, organizados na configuração C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Figura 4). O anel aromático “A” é derivado do ciclo acetato/malonato, enquanto o anel “B” é derivado da fenilalanina, que tem origem na via do ácido chiquímico (MIEAN e MOHAMED, 2001; BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; HERNÁNDEZ et al., 2009).



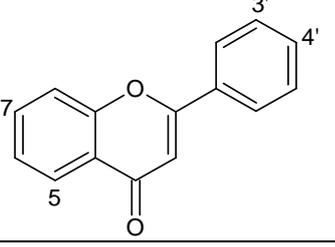
**Figura 4.** Estrutura química básica dos flavonóides.

Variações nas substituições e de saturação nas ligações do anel “C” resultam nas diferentes classes de flavonóides, como: flavonóis, flavonas, flavanonas, flavan-3-óis, isoflavonas, antocianidinas, entre outras (Tabela 7) (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006; MORRIS e ZHANG, 2006; MALTESE et al., 2009). As substituições podem incluir oxigenação, alquilação, glicosilação, acilação e sulfatação (BALASUNDRAM, SUNDRAM E SAMMAN, 2006).

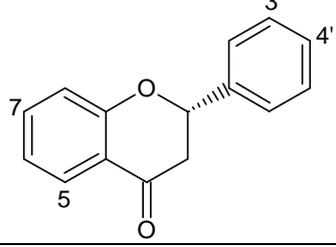
**Tabela 7.** Estrutura química das principais classes de flavonóides.

Flavan-3-óis						
						
Composto	3	5	7	3'	4'	5'
(+)-Catequina	βOH	OH	OH	OH	OH	-
(-)-Epicatequina	αOH	OH	OH	OH	OH	-
(-)-Epigallocatequina	αOH	OH	OH	OH	OH	OH

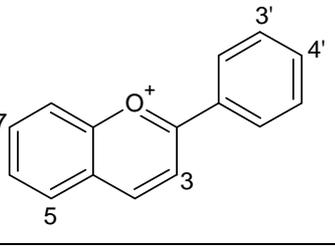
  

Flavonas						
						
Composto	3	5	7	3'	4'	5
Luteolina	-	OH	OH	OH	OH	-
Apigenina	-	OH	OH	-	OH	-
Crisina	-	OH	OH	-	-	-

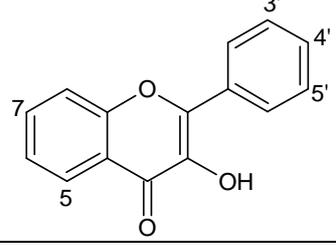
  

Flavanonas						
						
Composto	3	5	7	3'	4'	5'
Naringina	-	OH	Ormg	-	OH	-
Hesperetina	-	OH	OH	OH	OCH <sub>3</sub>	-
Naringenina	-	OH	OH	-	OH	-

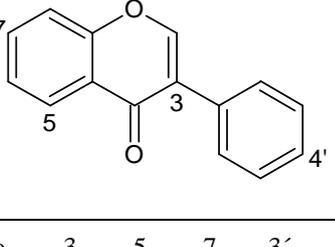
  

Antocianinas						
						
Composto	3	5	7	3'	4'	5
Cianidina	Oglc	OH	OH	OH	OH	-
Pelargonidina	Oglc	OH	OH	-	OH	-

Flavonóis						
						
Composto	3	5	7	3'	4'	5'
Quercetina	-	OH	OH	OH	OH	-
Caempferol	-	OH	OH	-	OH	-
Galangina	-	OH	OH	-	-	-
Fisetina	-	-	OH	OH	OH	-
Miricetina	-	OH	OH	OH	OH	OH

Isoflavonas						
						
Composto	3	5	7	3'	4'	5'
Genistéina	-	OH	OH	-	OH	-
Genistina	-	OH	Oglc	-	OH	-
Daidzéina	-	-	OH	-	OH	-
Daidzina	-	-	Oglc	-	OCH <sub>3</sub>	-
Fomonetina	-	-	OH	-	OCH <sub>3</sub>	-

Fonte: Pietta, 2000.

O efeito protetor dos flavonóides em sistemas biológicos é atribuído à sua capacidade de transferência de elétrons para os radicais livres, de quelar metais catalisadores, de ativar enzimas antioxidantes, reduzir radicais α – tocoferol ou inibir oxidases. Embora estes multi-

efeitos sejam provavelmente responsáveis para a eficácia global destes compostos em diversos sistemas experimentais, é difícil delinear estas propriedades isoladamente (HEIN, TAGLIAFERRO e BOBILYA, 2002).

### 3.4.3 Compostos fenólicos como agentes antioxidantes

#### 3.4.3.1 Generalidades

Os compostos fenólicos exibem um amplo espectro de efeitos biológicos, incluindo efeitos antibacteriano, anti-inflamatório e hepatoprotetora, ações antitrombóticas, antivirais, anticancerígenas e vasodilatadores; sendo que muitas dessas funções biológicas relatadas são conferidas por sua atividade antioxidante (SOOBRAATEE et al., 2005; PAIXÃO et al., 2007).

A atividade antioxidante dos compostos fenólico é quimicamente atribuída à capacidade de sequestro dos radicais livres, doação de átomos de hidrogênio ou elétron, pela ação de quelar íons metálicos, ou pela inibição de enzimas oxidativas; onde a estrutura química destes compostos é o fator determinante para estas atividades (PIETTA, 2000; PAIXÃO et al., 2007; MAQSOOD e BENJAKUL, 2010).

Geralmente, a ação antioxidante dos compostos fenólicos depende do número e das posições dos grupos hidroxila (OH) e de outros substituintes, bem como da presença de glicosilações na molécula que tendem a diminuir a atividade antioxidante de alguns compostos quando comparados com suas formas agliconas correspondentes (CAI et al., 2006; SAMRA et al., 2011).

#### 3.4.3.2 Relação estrutura-reatividade dos compostos fenólicos como antioxidantes

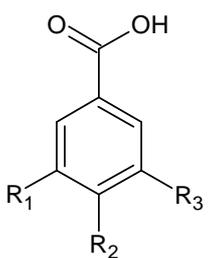
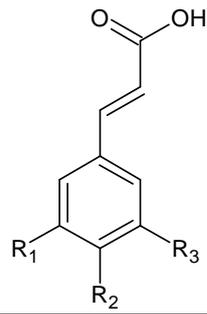
Cai et al. (2006) relatam que entre os diversos grupos dos compostos fenólicos os ácidos fenólicos e os flavonóides são os que mais se destacam em termos de atividade antioxidante tanto em sistemas hidrofílicos quando em sistema lipofílicos.

No caso dos ácidos fenólicos (Tabela 8), por exemplo, a atividade antioxidante depende do número e da posição dos grupos –OH em relação aos grupos carboxil funcional. Ácidos hidroxibenzóicos com a –OH na posição *orto* ou o grupamento –COOH na posição *para* mostraram atividade antioxidante, mas o mesmo comportamento não pode ser observado para os ácidos que apresentam a –OH na posição *meta*, como é o caso do ácido *m*-

hidroxibenzóico. A atividade antioxidante dos ácidos fenólicos aumenta com o aumento do grau de hidroxilação, a exemplo do ácido gálico, que demonstra alta atividade antioxidante. Entretanto, substituições dos grupos – OH por grupos metoxil nas posições “R<sub>1</sub>” e “R<sub>3</sub>” como o ácido siríngico reduzem a atividade antioxidante (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

Ácidos hidroxicinâmicos exibem uma alta atividade antioxidante comparado com seus ácidos hidroxibenzóicos correspondente. A alta atividade dos ácidos hidroxicinâmicos pode ser atribuída ao grupamento CH=CH–COOH, que garante grande habilidade de transferência de hidrogênio e estabilização dos radicais nos ácidos hidroxibenzóicos (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

**Tabela 8.** Estrutura química dos ácidos fenólicos.

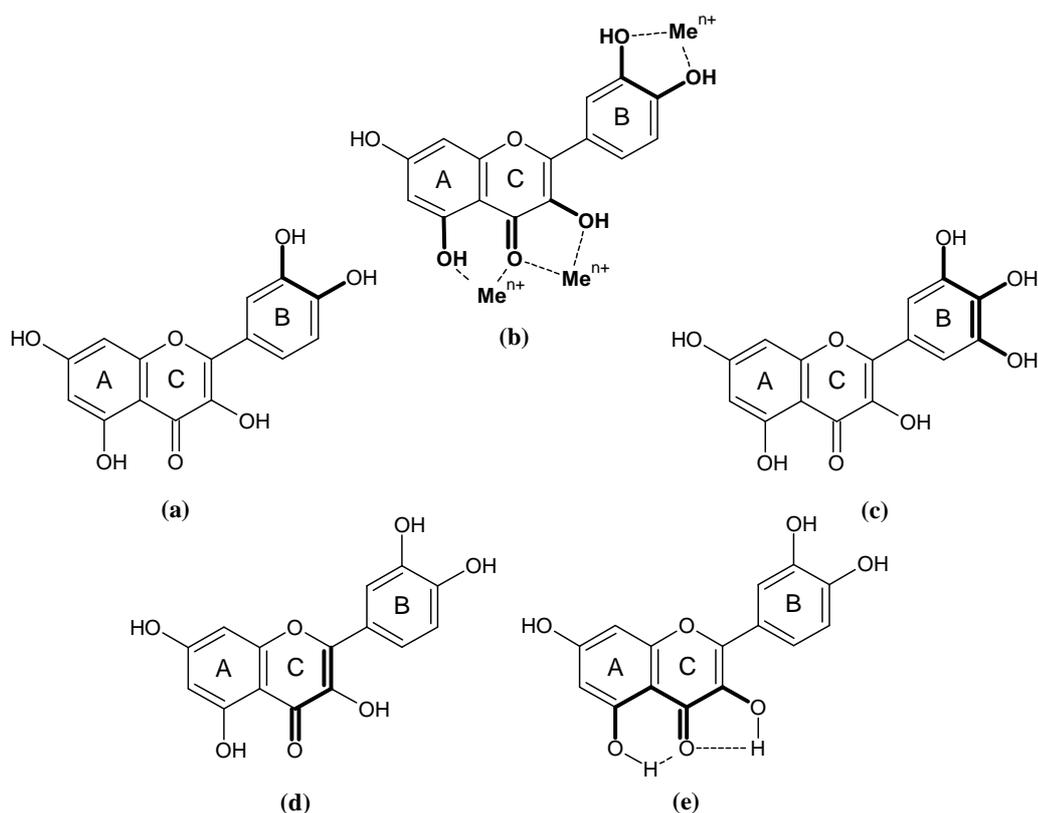
Ácido hidroxibenzóico				Ácido hidroxicinâmico			
							
Ácido	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	Ácido	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
Gálico	OH	OH	OH	<i>p</i> -cumárico	-	OH	-
Siríngico	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	Caféico	-	OH	OH
Vanílico	-	OH	OCH <sub>3</sub>	Ferrúlico	-	OH	OCH <sub>3</sub>

Fonte: Tarnawski, 2006.

Segundo Soobratee et al. (2005), Balasundram, Sundram e Samman (2006) e Samra et al. (2011) a relação estrutura-reatividade dos flavonóides é geralmente mais complicada do que os ácidos fenólicos, em virtude da relativa complexidade que os flavonóides apresentam. Algumas características estruturais e do tipo de substituições nos anéis “B” e “C” determinam a atividade antioxidante, tais como:

- a. O grau de hidroxilação e a posição dos grupos – OH no anel “B”, em particular na posição *orto* (grupo catecol) (Figura 5 a), resultam em alta atividade antioxidante, pois confere alta estabilidade aos radicais pela transferência de elétrons, ou atuam preferencialmente no sítio de ligação com os íons metálicos “Me<sup>n+</sup>” (Figura 5 b);

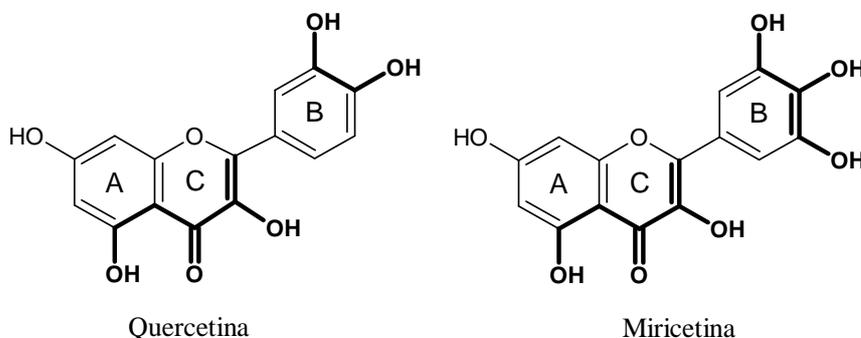
- b. A presença do grupo –OH nas posições 3', 4' e 5' do anel “B” (grupo piragalol) (Figura 5 c) favorece a atividade antioxidante dos flavonóides em comparação com aqueles que apresentam um único grupamento hidroxila. No entanto, sob algumas condições, tais compostos podem agir como pró-oxidantes, anulando assim o efeito antioxidante;
- c. A dupla ligação entre os carbonos C2 e C3, conjugada com a presença de C=O na posição “4” do anel “C” melhoram a capacidade de sequestro dos radicais por parte dos flavonóides (Figura 5 d);
- d. A dupla ligação entre os carbonos C2 e C3, combinada com a presença de grupo –OH nos carbonos C3 e C5, do anel “C” e “A”, respectivamente (Figura 5 e), também aumentam a capacidade de sequestro dos radicais por parte dos flavonóides, a exemplo da quercetina e caempferol;



**Figura 5.** Estruturas químicas responsáveis pela atividade antioxidante dos flavonóides; onde : (a) grupo catecol, (b) sítio de ligação com íons metálicos, (c) grupo piragalol, (d) dupla ligação entre os carbonos C2 e C3 do anel “C” e (e) dupla ligação entre os carbonos C2 e C3, combinada com a presença de grupo –OH nos carbonos C3 e C5, do anel “C”.

- e. Substituições do grupo – OH no anel “C” resultam no aumento do ângulo de torção e da coplanaridade dos compostos, fatos estes que diminuem a capacidade de sequestro dos radicais por parte dos flavonoides;
- f. Substituições do grupo – OH no anel “B” por grupos metoxil alteram o potencial redox, afetando diretamente a capacidade de sequestro do flavonoide.

Levando em consideração as características estruturais apontadas anteriormente, a quercetina e a miricetina (Figura 6) são os compostos de maior atividade de sequestro de radicais livres entre todos os flavonoides, em virtude de possuírem todas as estruturas que contribuem para atividade antioxidante (SAMRA et al., 2011).



**Figura 6.** Estruturas químicas da quercetina e miricetina.

#### 3.4.3.3 Compostos fenólicos naturais como agentes antioxidantes em óleos alimentícios

Os óleos com altos teores de ácidos graxos insaturados, especialmente poli-insaturados, são mais suscetíveis ao processo de oxidação. A fim de superar os problemas de estabilidade de óleos, os antioxidantes sintéticos, como o BHA e BHT, utilizados como aditivos alimentares. No entanto, pesquisas recentes revelaram que tais compostos podem estar envolvidos em problemas de saúde, incluindo câncer, levando algumas agências reguladoras a proibirem a utilização de alguns destes antioxidantes sintéticos em alimento, como no caso do TBHQ (BOUAZIZ et al., 2008).

Na percepção atual dos consumidores aspectos como: segurança, saúde e qualidade, tornaram-se as palavras-chave. Nestas circunstâncias, a investigação, descoberta e/ou desenvolvimento de antioxidantes naturais e seguros vem ganhando grande apelo. Recentemente inúmeros trabalhos promoveram a substituição desses antioxidantes sintéticos por antioxidantes de fontes naturais como em sementes de oleaginosas, frutas, legumes, nozes e outros materiais (FRUTOS e HERNÁNDEZ-HERRERO, 2004; IQBAL et al., 2008). As

fontes naturais de compostos com atividade antioxidante se tornaram alvo de vários estudos, em virtude de serem uma alternativa mais segura em comparação aos antioxidantes sintéticos. Muitos destes compostos já foram isolados e identificados, sendo que vários são de natureza fenólica (MOURE et al., 2001).

As propriedades antioxidantes dos compostos fenólicos sugerem sua possível utilização a fim de retardar os processos oxidativos em sistemas alimentícios, prolongando a vida de prateleira dos mesmos, além de promoverem benefícios à saúde (O'CONNELL e FOX, 2001; RUTH, SHAKER e MORRISSEY, 2001; GRAMZA e KORCZAK, 2005; BOUAZIZ et al., 2008).

Michotte et al. (2011) aplicaram diferentes padrões de compostos fenólicos em óleo de linhaça armazenado a 60°C, e verificaram que a miricetina retardou significativamente a oxidação dos ácidos graxos poli-insaturados em comparação com o BHA.

Extratos de espécies vegetais que sintetizam compostos fenólicos estão sendo aplicados em estudos oxidativos com óleos alimentícios como substituintes de antioxidantes sintéticos. Bouaziz et al. (2008) estudaram a oxidação do azeite de oliva a 50°C durante 6 meses na presença de extrato das folhas da oliveira, rico em hidroxitirosol, e observaram um efeito protetor do extrato contra a oxidação do óleo.

Zhang et al. (2010) verificaram que extratos vegetais de folhas de alecrim (*Rosmarinus officinalis*) foram capazes de evitar a oxidação do óleo de girassol armazenado a 60°C durante 21 dias, quando comparados com BHA e BHT. Segundo os mesmos autores o comportamento preventivo dos extratos das folhas de alecrim deve-se ao ácido carnósico.

Outro estudo avaliou a proteção de extratos das folhas de repolho (*Brassica oleracea* var), coentro (*Coriandrum sativum*), violácea (*Alternanthera sessilis*) e espinafre (*Spinacia oleracea*) em óleo de girassol armazenado a 180°C por quatro semanas; e foi verificado que as mesmas protegeram o referido óleo contra a oxidação, sobretudo o extrato das folhas de espinafre, tornando-se dessa forma uma alternativa para substituição dos antioxidantes sintéticos (SHYAMALA et al., 2005).

Embora o uso de compostos fenólicos naturais como antioxidantes em alimento seja particularmente promissor, aspectos técnicos necessitam ser considerados, entre eles: a eficiência de extração, a disponibilidade de matéria-prima suficiente para obtê-los, e

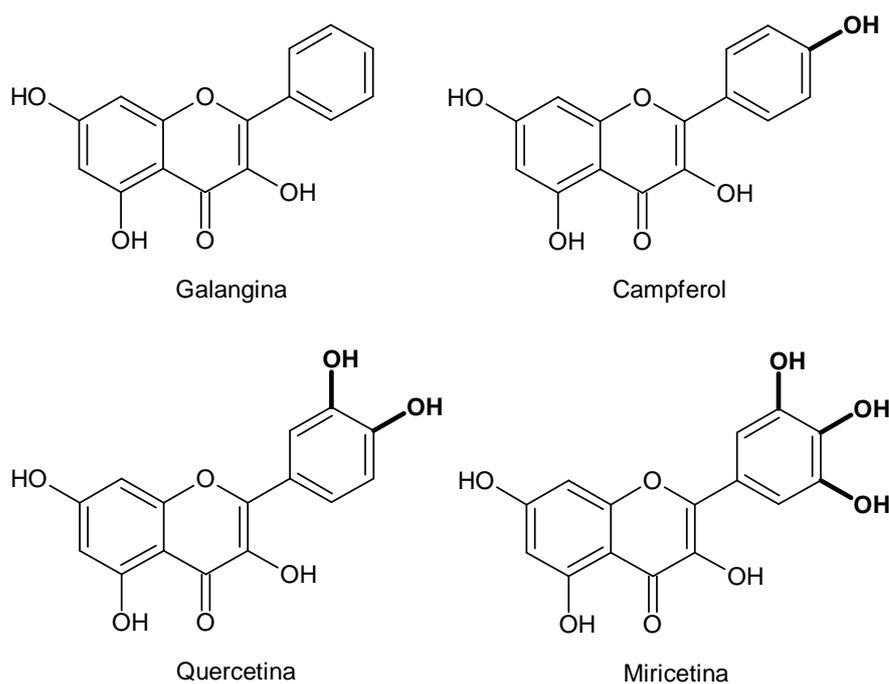
toxicidade ou considerações de segurança (BALASUNDRAM, SUNDRAM e SAMMAN, 2006).

#### **3.4.4 Interação dos compostos fenólicos com compostos lipídicos**

Como um dos objetivos deste trabalho foi verificar a capacidade de proteção dos compostos fenólicos frente ao processo de oxidação em óleos alimentícios, tornou-se pertinente a compreensão da afinidade dos compostos fenólicos por meios lipofílicos. Inúmeros trabalhos científicos abordam a interação de algumas classes de compostos fenólicos em meio apolar, a exemplo da interação dos mesmos com bicamadas lipídicas ou com a fase orgânica em partição na mistura de água/octanol.

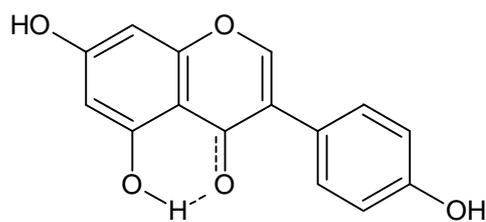
Observando a estrutura química dos compostos fenólicos é possível verificar que fatores como: o número e a distribuição dos grupos hidroxilas, grau de polimerização, e a presença de grupos metoxi no anel “C”, podem influenciar o tipo de interação dos diferentes compostos fenólicos com substâncias lipídicas ou não (DIJK, DRIESSEN e RECOURT, 2000; OTEIZA et al., 2005).

Kajiya et al. (2001) investigaram a afinidade pela bicamada lipídica entre quatro flavonóis que se diferenciam pelo grau de hidroxilação no anel “B”: galangina, campferol, quercetina e miricetina (Figura 6); e verificaram que o número de hidroxilas encontradas no anel “B” apresenta uma correlação direta na polaridade dos compostos analisados, ou seja, aquele composto que apresenta o maior número de hidroxilas no anel “B” apresenta menor apolaridade.



**Figura 7.** Estruturas químicas da galangina, campferol, quercetina e miricetina (KAJYIA et al., 2001).

Nas isoflavonas, observa-se a existência de grupo hidroxila no carbono C5, que apresenta um papel “reforçador” na hidrofobicidade, pois esta hidroxila forma um pseudo anel de seis membros com o grupo ceto do carbono C4 (Figura 7) (KATO et al., 2003). Tal comportamento reforçador do quarto anel também pode ser observado em outras classes de flavonóides como: flavonas, flavonóis e flavanonas (HENDRICH, 2006).



**Figura 8.** Anel de seis membros entre o grupo ceto (C4) e o grupo hidroxila (C5) (KATO et al., 2003).

Nakayama et al. (2006) compararam as afinidades dos flavanóis que apresentam geometria do tipo *cis* (epicatequinas) e *trans* (catequinas) em bicamadas lipídicas, e seus resultados demonstraram que os flavanóis do tipo *cis* apresentaram maior afinidade com relação aos seus isômeros *trans* correspondentes.

A presença de carboidratos na estrutura química afeta a polaridade dos compostos fenólicos. Em alguns casos, como da naringenina, a glicosilação aumenta a afinidade por compostos apolares, diferentemente do que era de se esperar da presença da glicose (DIJK, DRIESSEN e RE COURT, 2000).

### 3.5 ESPÉCIES VEGETAIS

#### 3.5.1 *Byrsonima crassifolia*

*Byrsonima crassifolia* (Figura 9) é uma espécie vegetal conhecida popularmente como muruci, muruci-do-campo ou muruci-da-praia, a qual pertence à família das Malpighiaceae (CAVALCANTE, 1991; MARTÍNEZ-VÁZQUEZ et al., 1999). Distribui-se em estado silvestre em quase toda a Amazônia, principalmente nas áreas campestres, dunas, capoeiras, no litoral, e áreas cultivadas. Sua dispersão no território brasileiro atinge os Estados do Mato Grosso, Minas Gerais e Bahia, além de outros países, a exemplo da Colômbia, Venezuela, Bolívia e Costa Rica (CAVALCANTE, 1991).



**Figura 9.** *Byrsonima crassifolia*.

O murucizeiro é uma árvore tortuosa de porte médio, crescendo até 5 m, possui caule cilíndrico, com casca escura e áspera, e folhas opostas de formato elíptico, variando de 7-15 cm de comprimento por 3-7 cm de largura, com ápice agudo (CAVALCANTE, 1991). A frutificação ocorre nos meses de dezembro a abril (CAVALCANTE, 1991; REZENDE e FRAGA, 2003). Os frutos, quando maduros, são pequenas drupas amarelas medindo aproximadamente 1,5 a 2 cm de diâmetro, que geram uma polpa de cor amarela rica em vitamina E, cálcio e fósforo (CAVALCANTE, 1991; GIRALDO-ZUNIGAI et al., 2006).

Os frutos possuem cheiro e sabor característicos, sendo sua polpa bastante apreciada tanto para o consumo caseiro, *in natura* ou em forma de suco, quanto na indústria alimentícia na forma de licores, geléias, doces e sorvetes (CAVALCANTE, 1991; ALVES e FRANCO, 2003). Vários estudos relatam à composição química de *B. crassifolia*, da qual foram isolados compostos voláteis dos frutos, glicolípídeos, triterpenos, ácidos triterpênicos, catequinas, e flavonóides das folhas e proantocianidinas e taninos do tronco (MARTÍNEZ-VÁZQUEZ et al., 1999).

Segundo Silva et al. (2007) as folhas de *B. crassifolia* apresentam considerável teor de compostos fenólicos ( $45,5 \pm 1,9$  mg/g em base úmida), sugerindo que esta espécie possui um promissor potencial como agente preventivo contra danos causados por radicais livres.

Folhas e cascas de algumas espécies de *Byrsonima* são usadas popularmente em disfunções gástricas, infecções cutâneas, picadas de cobra e ainda como antidiarréicos (FIGUEIREDO et al., 2005).

### 3.5.2 *Inga edulis*

*Inga edulis* (Figura 10) é uma espécie vegetal que pertence à família das Leguminosae conhecida popularmente como ingá – cipó, ingá comprido ou simplesmente ingá, oriunda da floresta tropical secundária da região amazônica (SOUZA et al., 2007b).



**Figura 10.** Folhas de *Inga edulis*.

É uma espécie que possui de 5 a 10 m de altura e 60 cm de diâmetro no caule, onde há ramificações angulosas. Os ramos formam uma ampla e densa copa que possui folhas

compostas com 4 a 6 pares de folíolos com até 24 cm de comprimento (POSSETTE, 2008; ORWA et al., 2009).

As folhas desta planta são ricas em compostos fenólicos ( $9,8 \pm 6,7$  mg/g em base úmida), especialmente catequina, epicatequina, miricetina-3-*O*- $\alpha$ -L-raminopiranosídeo e quercetina-3-*O*- $\alpha$ -L-raminopiranosídeo, os quais apresentam atividade antioxidante (SILVA et al., 2007a; SOUZA et al., 2007b). A quantidade destes compostos pode justificar certas propriedades medicinais (antiinflamatória e antidiarréica) atribuídas às folhas do ingá (SOUZA et al., 2007b).

A estação principal de floração é de março a abril e a época de frutificação é difícil de avaliar, mas as observações de campo em toda a Amazônia ocidental indicam que a época de frutificação ocorre no mês de outubro (ORWA et al., 2009). A planta produz uma vagem com até 1 m de comprimento, que contém sementes envoltas em uma polpa carnosa comestível de cor branca, sabor adocicado, e aroma característico (POSSETTE, 2008; ORWA et al., 2009). Esta é geralmente consumida *in natura* ou na forma de geléia (AREVALO-PINEDO et al., 2006).

O *I. edulis* é a espécie economicamente mais importante deste gênero, em virtude de se desenvolver bem em clima quente e úmido, e em solos ácidos, por seus frutos comestíveis, por ser fonte de sombra ou abrigo para culturas perenes, principalmente café e cacau, além de recuperar e fixar nitrogênio aos solos danificados, entre outros fatores (LEBLANC et al., 2005; ORWA et al., 2009).

### 3.5.3 *Euterpe oleracea*

*Euterpe oleracea* é uma palmeira que pertence à família Arecaceae e ocorre espontaneamente no Brasil, nos estados do Pará, Amapá, Amazonas, Tocantins, Maranhão e Mato Grosso, chegando a ser encontrada em países vizinhos como Guiana, Venezuela, Suriname e Colômbia; sendo predominantemente distribuída nas áreas da Amazônia oriental brasileira (OLIVEIRA, CARVALHO e NASCIMENTO, 2000; ROGEZ, 2000; ROCHA et al., 2007).

É uma palmeira que ocorre nos solos de várzea, de terra firme e de igapó, apresentando porte arbóreo que cresce formando touceiras a partir de sucessivas brotações de uma matriz, as quais possuem diferentes fases de desenvolvimento (ROGEZ, 2000; JARDIM,

MOURÃO e GROSSMANN, 2004). Quando adulto este vegetal pode chegar a 30 m de altura, apresentando caule liso com 12-18 cm de diâmetro e em seu ápice com cerca de 9-15 folhas (ROGEZ, 2000).

O açazeiro frutifica na forma de cachos a partir do terceiro ano e a produção máxima ocorre de 5 a 6 anos de idade. Existem dois períodos de comercialização: a entressafra correspondente à estação das chuvas, que ocorre de janeiro a junho, e a safra, estação mais seca, que corresponde de julho a dezembro. Ressalta-se que o último período de comercialização mencionado é o mais importante, visto que nele os frutos são mais numerosos por cacho e seu nível de maturidade é mais homogêneo (ROGEZ, 2000).

Os frutos (Figura 11) apresentam forma arredondada, com diâmetro de 1 a 2 cm e com massa variando de 0,8 à 2,3 g, e podem ser de duas variedades: *Verde* e *Tinga*, que são de cor verde antes e depois de maduros apresentam cor verde escura, ou *Preto*, os quais se tornam violeta / púrpura quando maduros. A cor desta última variedade se deve a altas concentrações de compostos antioxidantes, as antocianinas, que são pigmentos naturais pertencentes à família dos flavonóides (ROGEZ, 2000).



**Figura 11.** Frutos do açazeiro.

Nascimento e Silva (2005) reportam que o açazeiro é uma espécie que tem se destacado economicamente pelo potencial mercadológico de seus produtos, representados, principalmente, pelo palmito e pela bebida extraída do fruto, o açáí.

O açáí é uma bebida rica em compostos fenólicos, notadamente da classe das antocianinas (cianidina-3-*O*-arabinosídeo, cianidina-3-*O*-glicosídeo e cianidina-3-*O*-

rutinosídeo), além de outros compostos, a exemplo de epicatequina, catequina, homoorientina, orientina e isovitexina (ROGEZ, 2000; COÏSSON et al., 2005; ROCHA et al., 2007).

As antocianinas são compostos que apresentam considerável atividade antioxidante e um promissor potencial benéfico à saúde, tendo como suas principais propriedades bioativas: a captura de agentes oxidantes, ações antirradicalares e antiproliferativas (COÏSSON et al., 2005; PACHECO-PALENCIA, HAWKEN, TALCOTT, 2007). Estas atividades biológicas das antocianinas já foram descritas utilizando modelos *in vitro* (sistemas isolados e modelos celulares), bem como em modelos *in vivo* (estudo com animais e de intervenção humana) (COÏSSON et al., 2005).

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 MATÉRIAS-PRIMAS

Os óleos vegetais alimentícios selecionados para a avaliação do potencial preventivo dos compostos fenólicos frente ao processo oxidativo foram: o óleo de açaí, girassol e linhaça. A escolha de tais óleos se justificou pelos seus diferentes perfis de ácidos graxos mono- e poli-insaturados, pois são ricos em ácidos graxos oléico (C18:1), linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3), respectivamente.

Os óleos de girassol e linhaça foram adquiridos junto às empresas Sigma-Aldrich (Steinhein, Alemanha) e Vandeputte (Hainaut, Bélgica), respectivamente. No entanto, o óleo de açaí foi produzido em pequena escala na Usina de Alimentos (FEA/ITEC/UFPA), visto que sua comercialização ainda se encontra discreta.

Os óleos alimentícios utilizados para este estudo foram acondicionado em frascos âmbar, sob atmosfera de  $N_{2(g)}$  e refrigerados até o momento de sua utilização.

#### 4.1.1 Obtenção do óleo de açaí (*Euterpe oleracea*)

O óleo de açaí foi obtido a partir da bebida produzida através do despulpamento dos frutos de *E. oleracea*, conforme segue:

Os frutos foram coletados na Ilha do Cumbu (Belém-PA) e imediatamente transportados a Usina de Alimentos (FEA/ITEC/UFPA). No laboratório os frutos foram selecionados, limpos, imersos em água morna a 45°C e processados em bebida com auxílio de despulpadeira mecânica acoplada a um motor de marca KOHLBACH.

A bebida produzida, o açaí, foi congelada a -20°C e em seguida liofilizada. A matéria liofilizada teve sua fração lipídica extraída de acordo com metodologia oficial AOCS Bd 3-52 (AOCS, 2002) utilizado como solvente éter de petróleo de marca Cromoline (São Paulo, Brasil). O extrato resultante do processo de extração lipídica foi concentrado sob baixa pressão em evaporador rotativo Quimis modelo Q344B (São Paulo, Brasil) para a remoção de todo o solvente.

Por fim, todo o óleo produzido foi filtrado com auxílio de papel filtro para remoção das possíveis partículas sólidas e em seguida acondicionado em frascos âmbar, sob atmosfera de  $N_{2(g)}$  e congelado a -20°C até o momento de sua utilização.

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS ALIMENTÍCIOS

### 4.2.1 Índice de refração

O índice de refração das amostras dos óleos em estudo foi verificado de acordo com a metodologia oficial AOCS Cc 7-25 (AOCS, 2002).

### 4.2.2 Determinação da viscosidade

A viscosidade cinemática dos óleos foi determinada eletronicamente conforme a norma técnica ASTM D446, utilizando viscosímetro Cannon-Fenske KEN Kyoto Electronics modelo DA 130N (Kyoto, Japão) (SIMÕES, GIOIELLI e OLIVEIRA, 1997).

### 4.2.3 Determinação da densidade

A densidade relativa das amostras de óleo em estudo foi verificada através de metodologia oficial AOCS Cc 10a-25 (AOCS, 2002).

### 4.2.4 Determinação da cor

A cor dos óleos foi determinada através de colorimetria tristímulus ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ), a qual simula a percepção do sistema otológico humano, baseada na metodologia descrita por Mc Carthy et al. (2001), utilizando um colorímetro Minolta modelo CR 300 (Tóquio, Japão).

Aproximadamente 30g de cada amostra de óleo foram colocados em cubetas de quartzo apropriadas e em seguida passaram por três leituras no colorímetro. Os valores gerados foram integrados em um gráfico tridimensional que correlaciona os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .

### 4.2.5 Índice de acidez

A acidez das amostras de óleo em estudo foi verificada de acordo com a metodologia oficial AOCS Cd 3d-63 (AOCS, 2002).

#### 4.2.6 Índice de saponificação

O índice de saponificação das amostras de óleo em estudo foi verificado de acordo com a metodologia oficial AOCS Cd 3-25 (AOCS, 2002).

#### 4.2.7 Índice de peróxido

O índice de peróxido das amostras de óleo em estudo foi analisado segundo a metodologia oficial AOCS Cd 8-53 (AOCS, 2002).

#### 4.2.8 Capacidade antioxidante pelo método DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

O método DPPH• para avaliação da capacidade antioxidante se baseia na redução do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, por ação dos compostos antioxidantes presentes na amostra, ao ser reduzido o radical perde a cor púrpura tendendo ao amarelo (SINGLETON, ORTHOFER e LAMUELA – RAVENTOS, 1999)

O método do DPPH para as amostras de óleo foi realizado de acordo com o protocolo proposto por Lee et al. (2010), adaptado.

Em tubos de ensaio, a mistura reacional foi composta pela adição de 5000 µL da solução de DPPH• Sigma (St. Louis, EUA) na concentração de 5 mM em iso-octano Synth (São Paulo, Brasil) e 56 µL da amostra de óleo e homogeneizada com auxílio de vortex. A absorbância da mistura foi medida em espectrofotômetro UV/Visível Pharmacia Biotech® modelo Ultrospec 2000 (Cambridge, Inglaterra) a 508 nm após 30 minutos. A referência foi feita com iso-octano substituindo a amostra e as leituras de cada amostra foram realizadas em triplicata.

As capacidades de sequestro do radical de cada amostra foram calculadas de acordo com a porcentagem de inibição do radical DPPH• (% Inb), segundo a Equação 1.

$$(\%)Inb = 100 - \left[ \left( \frac{A_{amostra}}{A_{DPPH\bullet}} \right) \times 100 \right] \quad \text{Eq. 1}$$

Onde  $A_{\text{amostra}}$  e  $A_{\text{DPPH}\bullet}$  são valores de absorvância a 508 nm da amostra e da solução de DPPH $\bullet$ , respectivamente, no término da reação.

O valor da capacidade antioxidante foi expresso em micro mol de equivalente BHA por quilo do óleo ( $\mu\text{M EBHA.Kg}^{-1}$  óleo) a partir do coeficiente de regressão da curva de calibração (Equação 2).

$$DPPH (\mu\text{MEBHA}) = \left[ \frac{(\%) \text{Inibição}}{\text{coef. regressão}} \right] \times \text{Diluição} \quad \text{Eq. 2}$$

#### 4.2.9 Perfil dos ácidos graxos dos óleos alimentícios

O perfil dos ácidos graxos dos óleos de açaí, girassol e linhaça foi analisado conforme metodologia descrita por Meurens et al. (2005), adaptada por Michotte et al. (2011) para amostras de óleo alimentícios.

##### 4.2.9.1 Preparo das amostras

A metilação e a esterificação dos ácidos graxos dos óleos foram realizadas conforme o procedimento a seguir: aproximadamente 500 mg de cada amostra foram diluídos em 10 mL de KOH Synth (São Paulo, Brasil) a 0,1 M em metanol Tedia (Fairfield, OH) e colocadas em banho termostático Quimis modelo Q214M2 (São Paulo, Brasil) durante 1 h a 70°C. Posteriormente, 4 mL de HCl Impex (São Paulo, Brasil) a 1,2 M em metanol foram adicionados e a mistura foi mantida a 70°C por 20 minutos. Os ácidos graxos metilados e esterificados foram separados com a adição de 20 mL de hexano Tedia (Fairfield, OH) e 10 mL de água ultrapura. A fase orgânica foi acrescida de um padrão interno de ácido heptadecanóico (C17:0) Nu-Check Prep (Elysian, MN), filtrada em filtros de 0,45  $\mu\text{m}$ , colocada sob atmosfera de  $\text{N}_{2(\text{g})}$  e sob refrigeração até o momento da injeção.

##### 4.2.9.2 Análise cromatográfica

O volume de 1  $\mu\text{L}$  de cada amostra preparada conforme o item 4.2.9.1 foi injetado manualmente no cromatógrafo gasoso Shimadzu modelo GC 2010 (Kyoto, Japão) equipado

com coluna ZB-WAS plus (60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m) Phenomenex (Torrance, CA), detector de ionização de chama e injeção no modo split, com razão de 1:10. O gás Hélio (99,999%) Linde Gás (Pará, Brasil) foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 1 mL/min. A rampa de temperatura da coluna foi programada da seguinte forma: 180°C a 240°C com taxa de 10°C/min durante os primeiro 5 minutos de corrida, mantendo constante a temperatura ao longo dos 31 minutos restantes, sendo que as temperaturas do injetor e detector foram programadas para 220°C e 250°C, respectivamente.

Os ácidos graxos foram identificados através da comparação dos tempos de retenção com os compostos padrões comerciais de ésteres metílicos de ácidos graxos com cadeia carbônica de C14:0 a C24:1 Nu-Check Prep (Elysian, MN). Os resultados quantitativos foram obtidos por integração da área dos picos através da curva de calibração de cada ácido graxo (Tabela 9) por meio do software GC Solution Relance 2.30.

**Tabela 9.** Dados de calibração utilizados para quantificação dos ácidos graxos dos óleos de açaí, girassol e linhaça, utilizando a metodologia de padrão interno.

Ácido Graxo	Cadeia	Concentração ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	tr (min)	Equação da reta*	R <sup>2</sup>
Mirístico	C14:0	15-120	7,587	$y = 1,1292 x + 0,0162$	0,9958
Miristoléico	C14:1	3-20	7,927	$y = 1,1613 x + 0,00242$	0,9964
Palmítico	C16:0	40-320	9,341	$y = 1,0016 x + 0,0868$	0,9975
Palmitoléico	C16:1	13-100	9,702	$y = 1,0541 x + 0,0257$	0,997
Heptadecanóico	C17:0	50	10,481	-	-
Esteárico	C18:0	20-160	11,863	$y = 1,0244 x + 0,0317$	0,9979
Oléico ( <i>cis</i> )	C18:1	33-260	12,299	$y = 0,8558 x + 0,0305$	0,9883
Oléico ( <i>trans</i> )	C18:1	10-80	12,403	$y = 3,175 x + 0,0568$	0,9972
Linoléico	C18:2	5-40	13,142	$y = 1,1384 x + 0,0118$	0,9984
Linolênico	C18:3	5-40	14,449	$y = 1,2251 x + 0,00426$	0,9972
Araquídico	C20:0	3-20	15,689	$y = 1,0312 x + 0,00949$	0,9941
11-Eicosanóico	C20:1	23-180	16,358	$y = 1,0493 x + 0,0328$	0,9978
11-14-Eicosanodienóico	C20:2	3-20	17,711	$y = 1,1472 x + 0,00986$	0,9961
11-14-17-Eicosanotrienóico	C20:3	8-60	19,803	$y = 1,2703 x + 0,00361$	0,9957
Araquidônico	C20:4	3-20	19,449	$y = 1,3085 x + 0,0314$	0,9980
Eicosanopentaenóico	C20:5	25-200	21,850	$y = 1,2949 x + 0,1030$	0,9970
Behênico	C22:0	3-20	22,826	$y = 0,3561 x + 0,00827$	0,9951
Docosahexaenóico	C22:6	30-240	33,825	$y = 1,9756 x + 0,1625$	0,9947
Lignocérico	C24:0	3-20	31,642	$y = 1,1177 x + 0,0216$	0,9919
Nervônico	C24:1	3-20	33,090	$y = 1,2014 x + 0,0105$	0,9895

\* “y” é razão entre as áreas relativas dos ácidos graxos e do padrão interno e “x” é a concentração ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  óleo).

#### 4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS

Os extratos vegetais enriquecidos em compostos fenólicos de caráter apolar e liofilizados das três matrizes amazônicas, *B. crassifolia* (folhas), *I. edulis* (folhas) e *E. oleracea* (frutos), ricos em compostos fenólicos foram gentilmente cedidos pela empresa Amazon Dreams S/A (Pará, Brasil). Estes extratos foram as fontes de antioxidantes naturais para a aplicação na cinética de oxidação dos três óleos vegetais alimentícios utilizados neste trabalho.

#### 4.3.1 Compostos fenólicos totais

O método de Folin-Ciocalteu se baseia na reatividade comum dos compostos fenólicos quando estes reagem com o molibdotungstênio-fosfórico heteropoliânion (Folin) em meio alcalino (pH~10).

A quantificação dos compostos fenólicos dos extratos foi executada conforme protocolo proposto por Singleton, Orthofer e Lamuela-Raventos (1995) e adaptado por Silva (2006).

A mistura reacional foi constituída de 500 µL de amostra (água destilada como o branco), 250 µL de solução de Folin-Ciocalteu 1N Sigma (Steinhein, Alemanha) e 1250 µL de solução aquosa de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) Synth (São Paulo, Brasil) a 75 g.L<sup>-1</sup>. Após o período de incubação de 30 minutos à temperatura ambiente, a absorbância foi medida a 735 nm em cubetas de 1 cm de poliestireno.

O teor de compostos totais foi calculado a partir da curva de calibração do padrão de catequina (C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub>) Sigma (São Paulo, Brasil) e expresso como miligrama de equivalentes em catequina por grama de extrato seco (mg Eq CAT.g<sup>-1</sup> ES). Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

#### 4.3.2 Flavonóis totais

Os flavonóis apresentam a propriedade de formar um complexo estável com cloreto de alumínio (AlCl<sub>3</sub>), pois este sal liga-se com o grupo ceto do carbono C4 e as hidroxilas ligadas aos carbonos C3 e C5 do anel “B” dos flavonóis, que absorvem entre 385 a 440 nm (CHANG et al. 2002; SOUZA, 2007a).

Os flavonóis contidos nos extratos vegetais foram quantificados através do método colorimétrico na reação dos mesmos com cloreto de alumínio descrito por Silva et al. (2011).

Em uma cubeta, foi adicionado 1 mL da amostra de extrato diluído em metanol, 1 mL de solução metanólica de cloreto de alumínio a 2% (p/v) Merck (Darmstadt, Alemanha); e em seguida homogeneizado. A absorbância foi medida a 430 nm após 10 minutos. Todas as amostras foram realizadas em triplicatas, sendo que as leituras espectrofométricas não excediam a unidade de absorbância.

Os resultados foram expressos em miligrama de rutina ( $C_{27}H_{30}O_{16}$ ) Sigma (São Paulo, Brasil) por grama de extrato seco ( $\text{mg Eq RUT.g}^{-1}$  ES), calculado através da equação da curva de calibração do padrão.

#### 4.3.3 Flavanóis Totais

Os flavonóis podem ser dosados pelo método colorimétrico, que se baseia na reação de condensação dos flavanóis com o reagente *p*-dimetilaminocinnamaldeído (DMACA). Este composto reage com o anel benzênico orientado na posição meta, di- ou tri- hidroxilado, além da presença da ligação simples entre os carbonos C2 e C3. O complexo formado entre o flavanol e o DMACA é medido a 640 nm e a (+)-catequina é utilizada frequentemente como padrão de referência.

Os flavanoides presentes nos extratos vegetais foram mensurados de acordo com o protocolo propostos por Delcour e Devarebeke (1995) e descrito por Souza (2007a).

Em uma cubeta, foram adicionados 1 mL de solução de DMACA ( $1 \text{ g.L}^{-1}$ ) Sigma (Steinhein, Alemanha) e 200  $\mu\text{L}$  de amostra de extrato diluído em solução de ácido clorídrico (HCl) Synth (São Paulo, Brasil) a 0,5%, a mesma solução sendo utilizada para o branco. A absorvância foi medida a 640 nm após 15 minutos. Todas as amostras foram realizadas em triplicata, sendo que as leituras espectrofométricas não excediam a unidade de absorvância.

Os resultados foram expressos em miligrama de catequina Sigma (São Paulo, Brasil) por grama de extrato seco ( $\text{mg Eq CAT.g}^{-1}$  ES), calculado através da equação da curva de calibração do padrão.

#### 4.3.4 Capacidade antioxidante pelo método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

O método ORAC de avaliação da capacidade antioxidante se baseia na reatividade do substrato oxidável, fluoresceína, com radicais peroxil produzidos pela decomposição térmica ( $37^\circ\text{C}$ ) do AAPH (2,2-azinobis(-amidinopropano)dihidrocloreto) em fase aquosa e a pH 7,4. A diminuição induzida na fluorescência do substrato pela decomposição do AAPH é medida na presença e na ausência da amostra antioxidante testada no decorrer de 50 minutos de reação (PRIOR et al., 2003).

O procedimento analítico para verificação da atividade/capacidade antioxidante pelo método ORAC dos extratos vegetais foi proposto por Huang et al. (2002) e Ou et al. (2001), e descrita a seguir.

Em cada poço da microplaca (96 poços, branca - Greiner, Alemanha), alíquotas de 25  $\mu\text{L}$  de cada solução de trolox Sigma (Steinhein, Alemanha) nas concentrações de 4, 8, 20 e 40  $\mu\text{M}$  ou das amostras foram adicionados a 150  $\mu\text{L}$  de fluoresceína Sigma (Steinhein, Alemanha). A microplaca com as misturas foi então incubada no fluorímetro Bio-Tek modelo Synergy HT (Winooski, USA) a 37°C por 15 minutos. Em seguida, injetou-se mecanicamente 25  $\mu\text{L}$  de solução de AAPH em cada poço. O decaimento da fluorescência ( $\lambda_{\text{excitação}} = 485\text{nm}$ ;  $\lambda_{\text{emissão}} = 520\text{nm}$ ) foi acompanhado durante 50 minutos em intervalos de 1 minuto. As amostras foram analisadas em três diluições, considerando a média dos resultados como valor ORAC. A quantificação da capacidade antioxidante por esta metodologia foi realizada através do cálculo da área sob a curva (AUC) de decaimento da fluorescência (Equação 3), como proposto por Cao e Prior (1999), conforme a equação 3:

$$ORAC_{\mu\text{MET}} = \left[ \frac{(AUC_{\text{amostra}} - AUC_{\text{branco}})}{(AUC_{\text{Trolox}} - AUC_{\text{branco}})} \right] \times [\text{Trolox}] \times d \quad \text{Eq. 3}$$

Onde:  $ORAC_{\text{ET}}$  é o valor ORAC em micromolar de equivalente trolox por grama de extrato seco ( $\mu\text{M Eq Trolox.g}^{-1}$  ES);  $[\text{Trolox}]$  é a concentração do trolox; AUC, a área sob a curva das amostras, do branco (tampão fosfato) e do trolox (calculado pelo valor obtido a partir da equação da regressão linear do trolox a uma concentração de 1  $\mu\text{mol}$ ) e “d” o fator de diluição.

#### 4.3.5 Perfil cromatográfico dos extratos vegetais

A metodologia de identificação e quantificação dos compostos fenólicos dos extratos vegetais foi realizada através de um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de acordo com a metodologia descrita por Souza et al. (2007b), com modificações.

#### 4.3.5.1 Preparo da amostra

A partir dos extratos liofilizados, foram feitas soluções com concentração de  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$  em água acidificada a 1% com ácido fórmico (v/v), que em seguida foram filtradas com filtro de  $0,22 \mu\text{m}$  de porosidade, acondicionadas ao abrigo da luz, sob atmosfera de  $\text{N}_{2(\text{g})}$  e conservados a  $-20^\circ\text{C}$  até o momento da injeção.

#### 4.3.5.2 Procedimentos

A identificação e a quantificação dos compostos fenólicos dos extratos vegetais foram realizadas em um sistema CLAE em fase reversa composto por: cromatógrafo líquido Shimadzu modelo LC10Avp, pré-coluna  $\text{C}_{18}$  (3 mm x 4 mm), coluna cromatográfica Phenomenex Kinetex  $\text{C}_{18}$  (100 mm x 4,6 mm x  $2,6 \mu\text{m}$ ) (Torrance, CA), detectores UV/Visível Shimadzu PDA 10AV e de fluorescência Shimadzu RF10A<sub>XL</sub> (Kyoto, Japão).

A fase móvel foi composta por água acidificada a 1% (v/v) com ácido fórmico Tedia (Fairfield, OH) (Solução A) e acetonitrila Tedia (Fairfield, OH) acidificada a 1% (v/v) com ácido fórmico (Solução B), ambas filtradas em membrana de nylon com  $0,22 \mu\text{m}$  de porosidade, sendo que o gradiente estabelecido conforme a Tabela 10.

**Tabela 10.** Gradiente da fase móvel estabelecido para análise cromatográfica dos extratos vegetais.

Tempo (min)	Solução A	Solução B
0 – 0,01	91%	9%
0,01 – 19,00	72%	28%
19,00 – 20,00	91%	9%
20,00 – 23,00	91%	9%

O volume de amostra injetado foi de  $20 \mu\text{L}$ , o fluxo de eluição de  $1 \text{ mL.min}^{-1}$ , e a temperatura da coluna a  $30^\circ\text{C}$ .

A identificação e a quantificação foram realizadas por comparação dos tempos de retenção e por co-injeção dos padrões comerciais dos compostos fenólicos, que já fazem parte do banco de dados do laboratório de cromatografia (FEA/ITEC/UFPA) sobre as três plantas estudadas. Os resultados quantitativos foram obtidos por integração da área dos picos e

utilizando a curva de calibração de cada ácido graxo (Tabela 11) por meio do software Class VP Chromathography data station (Kyoto, Japão).

**Tabela 11.** Dados de calibração utilizados para quantificação dos compostos fenólicos.

Composto fenólico	Concentração (mg.L <sup>-1</sup> )	λ (nm)*	tr (min)**	Equação da reta***	R <sup>2</sup>
Ácido Fenólico					
Ácido gálico	1-50	280	3,32	y = 50454 x - 13402	0,999
Flavanol					
Catequina	1-50	280	10,36	y = 9744,8 x - 3252,4	0,999
Epicatequina	1-50	280	13,26	y = 15448 x - 4512,1	0,999
Epigallocatequina	1-50	280	9,50	y = 2087,9 x - 2288,1	0,997
Epigallocatequina galato	1-50	280	18,11	y = 24291 x - 10457	0,999
Flavonol					
Miricetina	1-100	370	23,17	y = 74352 x + 5040	0,999
Miricetina-3-raminopiranosídeo	1-50	370	18,67	y = 33351 x + 5616,9	0,999
Quercetina	1-100	370	27,98	y = 75188 x + 32405	0,999
Quercetina-3-glicosídeo	1-50	370	19,40	y = 27541 x - 3616,9	0,999
Quercetina-3-ramonosídeo	5-50	370	21,64	y = 33429 x - 142687	0,994
Flavona					
Apigenina	1-100	320	23,13	y = 69753 x - 9569,5	0,999
Isovitexina	1-50	320	18,51	y = 50636 x - 36856	0,999
Luteolina	1-100	370	28,08	y = 45514 x + 24755	0,999
Luteolina-8-C-glicosídeo	1-50	370	16,13	y = 36862 x - 21957	0,999
Luteolina-6-C-glicosídeo	1-50	370	16,47	y = 25168 x - 3729,1	0,999
Antocianina					
Cianidina	1-100	515	15,30	y = 59181 x - 178806	0,996
Cianidina-3-glicosídeo	1-50	515	10,76	y = 67322 x - 24601	0,999
Cianidina-3-rutinosídeo	1-50	515	11,39	y = 45217 x - 14373	0,999
Tanino					
Procianidina B <sub>1</sub>	1-50	280	8,83	y = 11002 x - 30004	0,994
Procianidina B <sub>2</sub>	1-50	280	12,03	y = 6464,7 x - 8360	0,998

\* “λ” é comprimento de onda de absorvância dos compostos fenólicos. \*\* “tr” é o tempo de retenção nas condições cromatográficas indicadas. \*\*\* “y” é concentração (μg.ml<sup>-1</sup>), “x” é a área relativa dos picos.

#### 4.4 REMOÇÃO DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS DOS ÓLEOS ALIMENTÍCIOS

A presença de compostos antioxidantes naturais como tocoferóis, tocotrienóis, é considerada um fator importante para a verificação da cinética de oxidação dos ácidos graxos dos óleos vegetais em estudo. Desta forma, fez-se necessária a remoção dos compostos antioxidantes presentes naturalmente nos óleos conforme proposto por Erkan, Ayranci e Ayranci (2009), que utilizaram alumina como material adsorvente destes compostos.

Aproximadamente 300 g de cada óleo foi colocado em contato com 150 g de alumina Sigma (Steinhein, Alemanha) em um becker e sob agitação por 2 h. Em seguida, esperou-se a alumina sedimentar e a amostra de óleo foi filtrado sob vácuo com auxílio de papel filtro.

Todas as amostras dos óleos que sofreram a remoção dos compostos antioxidantes naturais foram acondicionados em frascos âmbar, sob atmosfera de  $N_{2(g)}$  e sob-refrigeração até o momento de sua utilização.

#### 4.5 CINÉTICA DE ESTUDO

As cinéticas de oxidação dos óleos de açaí, girassol e linhaça foram realizadas conforme metodologia oficial AOCS Cg 5-97 (AOCS, 2002), com algumas adaptações.

##### 4.5.1 Procedimentos

Os óleos de açaí, girassol e linhaça foram acrescidos com os seguintes antioxidantes: BHA, quercetina (padrão) Sigma (Steinhein, Alemanha), Miricetina (padrão) Extrasynthèse (Genay, França) e extratos fracionados de caráter apolar de *B. crassifolia*, *E. oleracea* e *I. edulis* fornecidos gentilmente pela empresa Amazon Dreams S/A (Pará, Brasil); individualmente e na concentração final de  $555 \mu\text{M.kg}^{-1}$  (concentração equivalente a 100 ppm de BHA), e de palmitato de ascorbila Sigma (Steinhein, Alemanha) na concentração final de  $241 \mu\text{M.kg}^{-1}$  (concentração equivalente a 100 ppm de palmitato de ascorbila). O palmitato de ascorbila foi utilizado para auxiliar na homogeneização dos compostos fenólicos no meio oleoso. Em seguida, alíquotas de 20g de cada óleo adicionado com seus respectivos antioxidantes foram acondicionadas em frascos âmbar com área de exposição de aproximadamente  $7,1 \text{ cm}^2$  e colocadas em estufa com circulação forçada de ar a  $60^\circ\text{C}$ .

O período de exposição de cada óleo foi de acordo com o exposto na tabela 12, onde os números representam a quantidade de replicatas a cada tempo durante o ensaio.

**Tabela 12.** Planejamento experimental para os óleos de açaí, girassol e linhaça.

Óleo	Tempo e n° de replicatas			
	0 dia	3 dias	7 dias	11 dias
Açaí	1	1	2	1
Girassol	1	2	3	1
Linhaça	1	2	3	1

A cada dia de coleta, os frascos contendo os óleos foram retirados da estufa, saturados com N<sub>2(g)</sub> e acondicionados a -20°C.

#### 4.5.2 Perfil cromatográfico dos ácidos graxos dos óleos alimentícios

O perfil cromatográfico do óleo de açaí, girassol e linhaça durante a cinética de estudo foi realizado conforme descrito no item 4.2.9.

#### 4.5.3 Avaliação da oxidação primária

A avaliação dos produtos primários da oxidação dos óleos de açaí, girassol e linhaça foram quantificados pelo método oficial de índice de peróxido AOCS Cd 8-53 (AOCS, 2002).

#### 4.5.4 Avaliação de oxidação secundária

A avaliação dos produtos secundários da oxidação dos óleos de açaí, girassol e linhaça foram quantificados pelo método oficial de índice de *p*-anisidina AOCS Cd 18-90 (AOCS, 2002).

### 4.6 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

Os dados obtidos experimentalmente da oxidação foram tratados através de análise de variância (ANOVA) e do teste de comparações múltiplas das médias (Teste de Tukey HDS),

utilizando o software STATISTIC 7.1 sob Windows (Stat-Soft, Oklahoma, USA). As diferenças entre médias foram analisadas pelo Teste de Tukey e somente as variáveis que apresentaram nível de significância superior a 95% ( $p < 0,05$ ) foram consideradas.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS ÓLEOS ALIMENTÍCIOS

A caracterização dos óleos de açaí, girassol e linhaça foi realizada com o objetivo de verificar os parâmetros físico-químicos de qualidade de cada um dos óleos objeto de estudo. Na Tabela 13 são apresentados valores das análises físico-químicas e de perfil cromatográfico dos ácidos graxos de cada óleo.

**Tabela 13.** Caracterização físico-química dos óleos vegetais de açaí, girassol e linhaça.

Análises		Óleo de Açaí	Óleo de Girassol	Óleo de Linhaça
Índice de refração		1,481 ± 0,001	1,473 ± 0,001	1,448 ± 0,020
Densidade (g.cm <sup>-3</sup> )		0,893 ± 0,001	0,917 ± 0,001	0,929 ± 0,001
Viscosidade (mm <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )		14,938 ± 0,015	20,426 ± 0,005	17,651 ± 0,002
Cor	L*	17,89 ± 1,37	26,66 ± 2,66	26,80 ± 2,67
	a*	0,87 ± 0,26	-0,55 ± 0,14	-0,20 ± 0,05
	b*	1,25 ± 0,41	4,31 ± 1,23	2,82 ± 0,77
Acidez (mg KOH.g <sup>-1</sup> )		0,46 ± 0,03	0,10 ± 0,01	0,10 ± 0,01
Índice de saponificação (mg KOH.g <sup>-1</sup> )		175,69 ± 2,99	185,56 ± 0,38	185,14 ± 0,77
Índice de peróxido (meq H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .Kg <sup>-1</sup> )		1,26 ± 0,08	5,48 ± 0,27	7,48 ± 0,32
Atividade antioxidante – Método DPPH (µM EBHA.Kg <sup>-1</sup> )		2097 ± 157	1441 ± 60	1927 ± 28
Perfil em ácidos graxos (%)				
Mirístico	(C14:0)	-	< 0,5	-
Palmítico	(C16:0)	19,03 ± 1,05	7,01 ± 0,2	4,61 ± 0,10
Palmitoléico	(C16:1)	3,03 ± 0,87	< 0,5	-
Esteárico	(C18:0)	1,17 ± 0,1	2,92 ± 0,30	2,96 ± 0,10
Oléico	(C18:1)	64,09 ± 1,35	28,42 ± 6,20	20,30 ± 0,10
Linoléico	(C18:2)	6,07 ± 3,00	60,00 ± 2,40	15,45 ± 0,10
Linolênico	(C18:3)	4,20 ± 3,00	< 0,5	56,30 ± 1,10
Araquídico	(C20:0)	< 0,5	< 0,5	< 0,5
11-Eicosanóico	(C20:1)	-	< 0,5	< 0,5

Comparando os resultados obtidos na caracterização físico-química do óleo de girassol (Sigma-Aldrich), foi possível verificar que o mesmo está de acordo com a RDC n° 270 de

22/09/2005, que aprova o regulamento técnico para fixação de padrão de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais (BRASIL, 2005a). No entanto, o óleo de linhaça (Vandeputte) não possui legislação nacional que garanta padrões de identidade e qualidade do mesmo, sendo necessário comparar com regulamentos técnicos de outras agências; desta forma, os resultados obtidos nas análises de caracterização físico-química do óleo de linhaça estão de acordo com os valores de referência descritos pela *American Oil Chemists Society*.

Em relação aos dados de caracterização encontrados para o óleo de açaí, não foi possível verificar se o mesmo encontrava-se dentro dos parâmetros de qualidade, pois não existe legislação que estabeleça padrões de qualidade para este produto. No entanto, os resultados das características físico-químicas e perfil de ácidos graxos encontrados para o óleo extraído da polpa dos frutos de *E. oleracea* foram semelhante Pacheco-Palencia, Talcott e Talcott (2008), em que o ácido oléico prevalece em termos quantitativos.

Os valores encontrados para a análise de densidade e de perfil de ácidos graxos demonstram que quanto maior a quantidade de ácidos graxos poli-insaturados de um óleo, maior será sua densidade. Outro parâmetro analisado foi a acidez, na qual todos os três óleos em estudo apresentaram valores inferiores a  $1 \text{ mg KOH.g}^{-1}$ , sendo que o óleo de açaí apresentou índice levemente superior aos comparado aos demais óleos em estudo.

A concentração de produtos de oxidação primário, verificado através do ensaio de índice de peróxido, apresentou valores inferiores ao valor máximo permitido pela legislação,  $10 \text{ mEq H}_2\text{O}_2. \text{ Kg}^{-1}$  de óleo (BRASIL, 2005b).

## 5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS VEGETAIS

Os extratos enriquecidos de *B. crassifolia*, *I. edulis* e *E. oleracea* foram as fontes de compostos fenólicos naturais utilizados separadamente como antioxidantes nos três diferentes óleos alimentícios. Neste contexto, fez-se necessário a caracterização dos extratos quanto ao teor, classe e capacidade antioxidante pelo método ORAC (Tabela 14).

**Tabela 14.** Caracterização dos extratos enriquecidos de *B. crassifolia*, *I. edulis* e *E. oleracea*.

Análise*	Extrato de <i>B. crassifolia</i>	Extrato de <i>I. edulis</i>	Extrato de <i>E. oleracea</i>
Compostos Fenólicos Totais (mg Eq CAT.g <sup>-1</sup> ES) <sup>a</sup>	629,3 ± 14,7	329,3 ± 7,1	302,9 ± 8,7
Flavanóis Totais (mg Eq CAT.g <sup>-1</sup> ES) <sup>b</sup>	83,7 ± 4,3	32,2 ± 4,0	32,5 ± 1,7
Flavonóis Totais(mg Eq RUT.g <sup>-1</sup> ES) <sup>c</sup>	24,7 ± 1,2	146,7 ± 5,1	15,5 ± 1,3
ORAC (µM Eq Trolox.g <sup>-1</sup> ES) <sup>d</sup>	22.195 ± 35	34.175 ± 86	9.027 ± 29

\*Valores médios ± desvio padrão.

Os valores de compostos fenólicos totais para o extrato de *B. crassifolia* foram aproximadamente o dobro encontrado para os extratos de *E. oleracea* e *I. edulis*. Silva et al. (2007) estudaram o conteúdo de compostos fenólicos de 15 plantas da flora amazônica, entre elas *B. crassifolia* e *I. edulis*, e verificaram que o extrato de folhas de *B. crassifolia* apresentava os maiores valores em compostos fenólicos totais.

Os teores de flavanóis totais encontrados para os extratos apresentaram um comportamento semelhante ao encontrado para o ensaio de compostos fenólicos totais; o extrato de *B. crassifolia* possui em média 83,7 mg Eq CAT.g<sup>-1</sup>ES, valor nitidamente superior ao encontrado para os demais extratos, que possuíam em média 32 mg Eq CAT.g<sup>-1</sup>ES. A concentração média de flavonóis totais do extrato de *I. edulis* foi de 147 mg Eq RUT.g<sup>-1</sup>ES, valor bem superior ao verificado para os extratos de *B. crassifolia* e *E. oleracea*, que foram de 24,7 e 15,5 mg Eq RUT.g<sup>-1</sup>ES, respectivamente.

Nos ensaios de flavanóis e flavonóis totais, quando comparados os valores encontrados para os extratos de *B. crassifolia* e *I. edulis*, foi possível verificar o antagonismo entre as concentrações nas duas análises. O primeiro extrato apresenta valores superiores de flavanóis e inferiores para flavonóis; todavia o extrato de *I. edulis* possui perfil contrário quanto a essas duas classes de flavonóides, comportamento este também observado no por Silva et al. (2007).

Correlando os resultados de flavonóis totais e de capacidade antioxidante pelo método ORAC, foi possível observar que quanto maior a concentração de compostos fenólicos da classe dos flavonóis, maior foi a capacidade antioxidante apresentada pelos extratos. Segundo Samra et al. (2011) a alta atividade antioxidante dos flavonóis deve-se as suas características químicas estruturais. A capacidade antioxidante quantificada pelo ORAC demonstrou valores médios elevados quando comparados com extratos de outras plantas da flora amazônica, tais

como: *Brownea rosademonte* (289,4  $\mu\text{M}$  Eq Trolox.g<sup>-1</sup>ES), *Piper putumayoense* (359,1  $\mu\text{M}$  Eq Trolox.g<sup>-1</sup>ES) e *Senna reticulata* (222,6  $\mu\text{M}$  Eq Trolox.g<sup>-1</sup>ES), confirmando que os extratos utilizados são altamente ricos em compostos antioxidantes (SILVA et al., 2007 e LIZCANO et al., 2010).

Os resultados da análise de cromatografia líquida dos extratos vegetais são apresentados na Tabela 15. Foram identificados três compostos para os extratos de *B. crassifolia* e *I. edulis*, e cinco compostos para *E. oleracea*. Todos os compostos identificados e quantificados estavam de acordo com dados da literatura para os extratos das espécies vegetais (ROGEZ, 2000; COÏSSON et al., 2005; ROCHA et al., 2007; SOUZA et al., 2007b).

**Tabela 15.** Perfil dos compostos fenólicos dos extratos vegetais.

Extrato	Composto	Concentração (mg.g <sup>-1</sup> ES)*
<i>B. crassifolia</i>	Ácido gálico	208,1 ± 9,7
	Quercetina-3-O- $\alpha$ -L-glicosídeo	36,3 ± 0,3
	Epigallocatequina galato	34,8 ± 0,5
<i>I. edulis</i>	Ácido gálico	204,8 ± 6,5
	Miricetina-3-O- $\alpha$ -L-raminopiranosídeo	248,8 ± 5,4
	Quercetina-3-O- $\alpha$ -L-glicosídeo	14,0 ± 0,8
<i>E. oleracea</i>	Ácido gálico	397,7 ± 0,5
	Cianidina-3-O-glicosídeo	20,7 ± 1,2
	Cianidina-3-O-rutinosídeo	29,0 ± 1,0
	Orientina (luteolina-8-C-glicosídeo)	28,2 ± 1,2
	Homoorientina (luteolina-6-C-glicosídeo)	20,2 ± 1,2

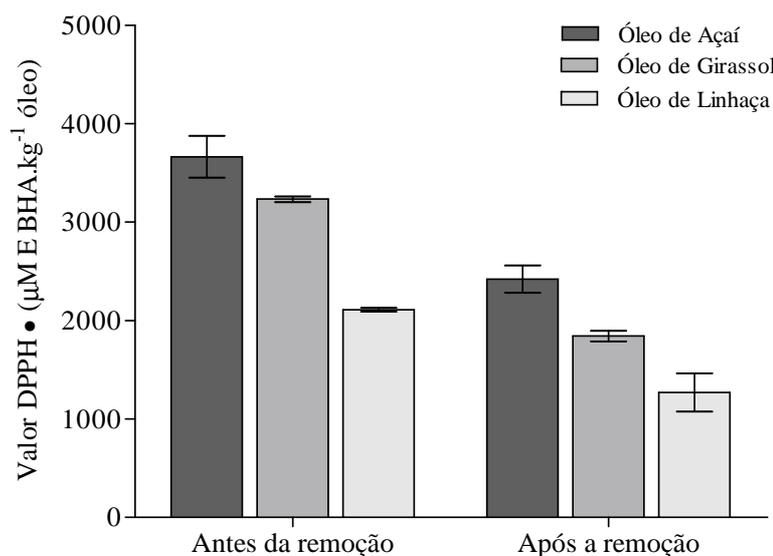
\*Valores médios  $\pm$  desvio padrão

A presença de grande quantidade de ácido gálico nos três extratos deve ser destacada, pois esse ácido hidroxibenzoico apresenta característica muito polar, o que pode interferir na sua solubilidade e ação antioxidante em meio lipofílico. As formas glicosiladas dos flavonóides também apresenta baixa solubilidade na ausência de emulsificantes. Deve ser destacada alta concentração de Miricetina-3-O- $\alpha$ -L-raminopiranosídeo no extrato de *I. edulis*, pois esse composto representa 25% do extrato e apresenta aplicações farmacológicas e alimentares interessantes (WANG et al., 2010).

### 5.3 REMOÇÃO DOS ANTIOXIDANTES NATURAIS DOS ÓLEOS ALIMENTÍCIOS

O procedimento de remoção de compostos antioxidantes naturais presentes nos óleos em estudo foi necessário para observar a ação apenas dos compostos fenólicos na proteção contra a oxidação dos óleos. A presença dos compostos antioxidante foi avaliada através da metodologia da redução do radical DPPH•, conforme item 4.2.8 (materiais e métodos). Na Figura 13, estão representados os valores de DPPH• dos óleos antes e após o processo de remoção dos antioxidantes naturais com auxílio da alumina.

A partir dos resultados encontrados foi possível observar que o óleo de açaí apresentou os maiores valores de capacidade antioxidante, seguido do óleo de girassol e linhaça, respectivamente. Os valores encontrados para o óleo de açaí, pode ser justificado pelo fato do mesmo ser um óleo bruto, ou seja, o mesmo não passou por nenhum processo de refino, diferentemente dos outros dois óleos em estudo.



**Figura 12.** Atividade antioxidante dos óleos açaí, girassol e linhaça antes e após da remoção parcial dos antioxidantes.

A tentativa de remoção dos compostos antioxidantes naturais dos óleos reduziu em média de 34, 43 e 40% o valor DPPH dos óleos de açaí, girassol e linhaça, respectivamente. Apesar da redução acentuada dos valores de DPPH para cada um, não foi possível a redução total dos antioxidantes naturais, como ocorreu no trabalho de Erkan, Ayranci e Ayranci (2009), que retiraram todos os antioxidantes presentes naturalmente no óleo de girassol.

## 5.4 CINÉTICA DE OXIDAÇÃO DOS ÓLEOS

A oxidação dos óleos de açaí, girassol e linhaça na presença de compostos fenólicos de diferentes origens foi realizada através de uma cinética de 11 dias a 60°C, com quatro tempos de coleta (0, 3, 7 e 11 dias). A escolha da metodologia oficial AOCS Cg 5-97 (AOCS, 2002), justifica-se pelo uso de uma temperatura que acelera as condições reais de oxidação de óleos vegetais.

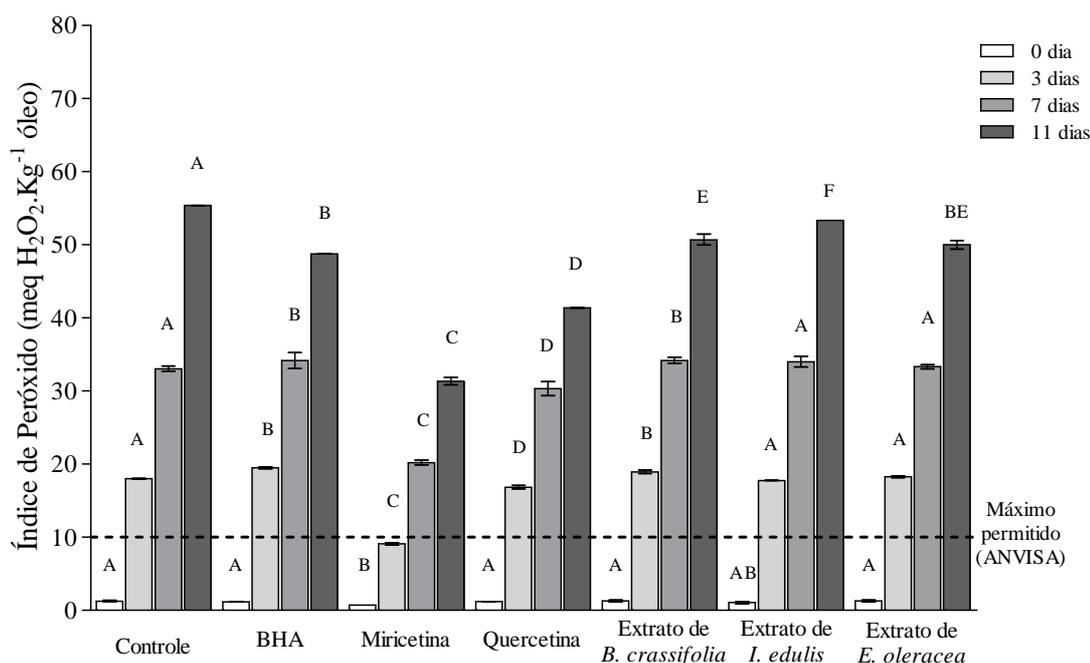
A integridade das amostras dos óleos foi mensurada através da avaliação do índice de peróxido, valor de *p*-anisidina e de perfil dos ácidos graxos por cromatografia gasosa.

### 5.4.1 Produtos primários de oxidação

Os produtos primários de oxidação dos óleos formados durante a cinética foram quantificados através do ensaio de índice de peróxido. Nas Figuras 13, 14 e 15 estão representados resultados da evolução da formação dos peróxidos nos óleos de açaí, girassol e linhaça, respectivamente.

Comparando todos os antioxidantes utilizados durante a cinética de oxidação do óleo de açaí, verificou-se que apenas o padrão miricetina apresentou a capacidade de retardar o processo oxidativo até o terceiro dia de ensaio, pois os valores para o índice de peróxido foram inferiores ao máximo permitido pela legislação, 10 mEq H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Kg<sup>-1</sup> de óleo (BRASIL, 2005). No entanto, os demais compostos ou extratos antioxidantes não apresentaram a capacidade de proteger o óleo de açaí.

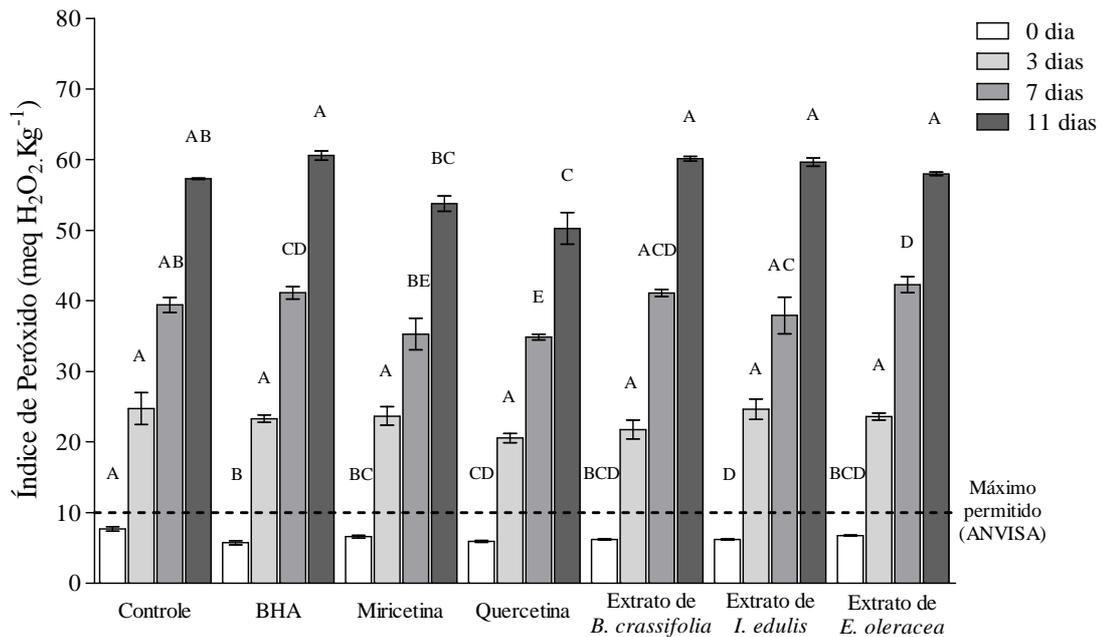
Observando o comportamento de cada compostos ou extratos antioxidantes frente à formação dos peróxidos, foi possível observar a semelhança de comportamento entre os extratos de *E. oleracea* e *I. edulis*, entre o padrão sintético BHA e o extrato de *B. crassifolia*. Os padrões de compostos fenólicos, miricetina e quercetina, apresentam as menores taxas de formação de peróxido ao longo do estudo.



**Figura 13.** Evolução do índice de peróxido do óleo de açaí durante a cinética na presença de 100 ppm de palmitato de ascorbila e de 100 ppm de antioxidante ou de equivalente compostos fenólicos para os extratos. Média entre os antioxidantes e para um mesmo tempo apresentam letras maiúsculas diferentes (A, B, C...), quando diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Observando os resultados da formação de peróxidos no óleo de girassol (Figura 14), foi possível verificar que nenhum dos compostos ou extratos antioxidantes utilizados com a intenção de evitar o processo de oxidação foi eficaz. Este comportamento pode ser justificado pelos valores iniciais do índice de peróxido, em torno de  $5 \text{ mEq H}_2\text{O}_2 \cdot \text{Kg}^{-1}$ , os quais indicam que o início na cinética o óleo de girassol já se encontrava em curso, comprometendo desta forma a avaliação do efeito protetor dos compostos ou extratos antioxidantes.

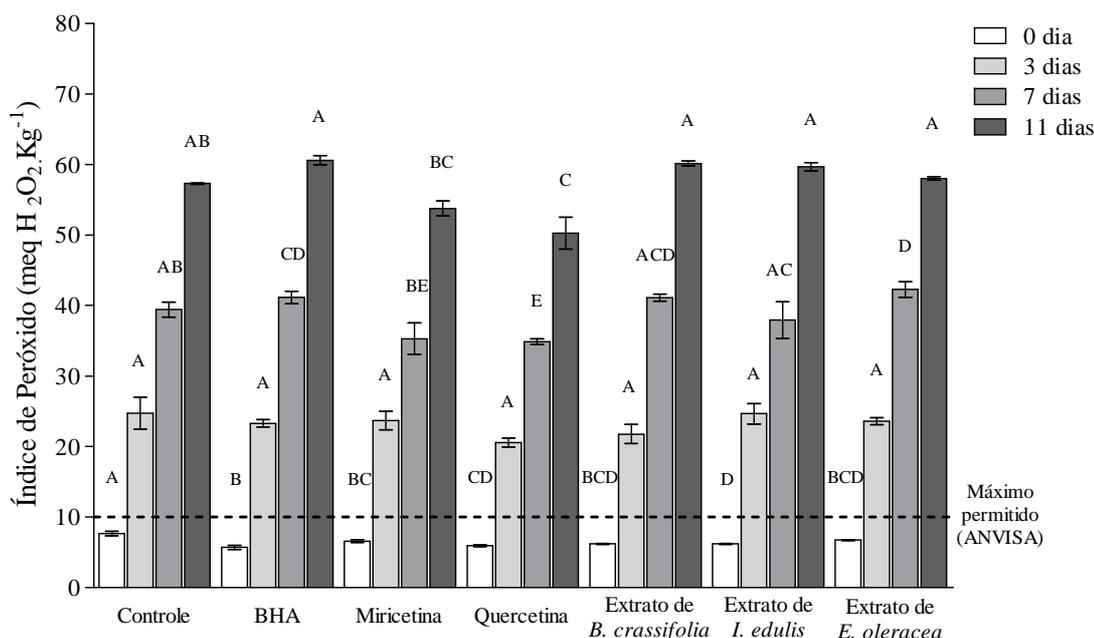
As amostras de óleo de girassol acrescidas com os extratos de *B. crassifolia*, *E. oleracea* e *I. edulis* apresentaram comportamento semelhante com as amostras de acrescidas com BHA.



**Figura 14.** Evolução do índice de peróxido do óleo de girassol durante a cinética na presença de 100 ppm de palmitato de ascorbila e de 100 ppm de antioxidante ou de equivalente compostos fenólicos para os extratos. Média entre os antioxidantes e para um mesmo tempo apresentam letras maiúsculas diferentes (A, B, C...), quando diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

O óleo de linhaça apresentou valores de iniciais médios de peróxidos mais elevados, aproximadamente  $7 \text{ mEq H}_2\text{O}_2 \cdot \text{Kg}^{-1}$  (Figura 16), fato que indica o início do processo de oxidação deste óleo, comprometendo desta forma a avaliação do efeito preventivo dos compostos ou extratos antioxidantes utilizados.

As amostras de óleo de linhaça adicionadas com os extratos de *B. crassifolia*, *E. oleracea* e *I. edulis*, como agentes antioxidantes, não apresentaram diferença estatística quando comparadas com as amostras de óleo linhaça que não receberão a adição de nenhum antioxidante (controle).



**Figura 15.** Evolução do índice de peróxido do óleo de linhaça durante a cinética na presença de 100 ppm de palmitato de ascorbila e de 100 ppm de antioxidante ou de equivalente compostos fenólicos para os extratos. Média entre os antioxidantes e para um mesmo tempo apresentam letras maiúsculas diferentes (A, B, C...), quando diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Como era esperado, o tempo de exposição foi estatisticamente significativo na formação dos peróxidos ao longo da cinética de oxidação para todos os óleos em estudo. Comparando as médias das taxas de formação dos peróxidos nos diferentes óleos, foi possível verificar que não há diferença na oxidação dos óleos de girassol e linhaça, porém o óleo de açaí se diferenciou dos demais óleos em estudo, pois apresentou uma taxa de formação dos peróxidos superior; comportamento que surpreende, pois entre os três o óleo de açaí deveria ser mais estável, em virtude possuir uma menor quantidade de ácidos graxos poli-insaturados quando comparados com os óleos de girassol e linhaça.

Entre os três óleos em estudo, o óleo de girassol foi o que apresentou a maior formação de peróxido em termos quantitativos; fato este que surpreende, pois este comportamento era esperado para o óleo de linhaça, o qual apresenta grande quantidade de ácido linolênico, que entre os ácidos graxos mais comuns nos óleos vegetais é um dos mais susceptíveis a ação de espécies reativas de oxigênio (O'BRIEN, 2009).

Através do tratamento estatístico dos resultados de formação de peróxidos experimentais obtido para os três óleos foi possível verificar que a taxa de oxidação do óleo de açaí foi estatisticamente superior quando comparado com os óleos de girassol e linhaça, este comportamento pode ser justificado em virtude do óleo de açaí utilizado neste estudo não

ser um óleo que passou por um processo de refino, o qual apresenta entre os seus objetivos remover possíveis agentes que auxiliam no processo de oxidação dos óleos (O'BRIEN, 2009).

Ao compararmos os diferentes antioxidantes utilizados durante este trabalho, foi possível verificar que os padrões de compostos fenólicos miricetina e quercetina, foram os que mais se destacaram em evitar que os diferentes óleos fossem oxidados, fato este que se justifica por serem descritos como os compostos fenólicos com as maiores propriedades antioxidantes (SAMRA et al., 2011).

A miricetina foi o composto utilizado como antioxidante que apresentou os melhores resultados na redução da formação do hidroperóxidos, principalmente quando adicionada ao óleo de açaí. Michotte et al. (2011) também comprovaram a capacidade protetora da miricetina frente ao processo de oxidação de óleo vegetal, que neste caso se tratava do óleo de linhaça. A quercetina, a pesar de ser um dos compostos fenólicos com a maior propriedade antioxidante (SAMRA et al., 2011).

Examinando as estruturas químicas da miricetina e da catequina, juntamente com os resultados de índice de peróxido encontrados, verificou-se que o maior grau de hidroxilação do anel B dos flavonóides promove uma maior atividade antioxidante aos mesmos, conforme havia descrito Soobratee et al. (2005), Balasundram, Sundram e Samman (2006) e Samra et al. (2011).

A pesar de os extratos vegetais de *B. crassifolia*, *E. oleracea* e *I. edulis* apresentarem altos valores de compostos fenólicos totais e de capacidade antioxidante pelo método ORAC (Tabela 14), os mesmos não apresentaram a capacidade de evitar o início e/ou a propagação do processo de oxidação dos óleos. Esta constatação pode ser justificada de duas formas: [1] a presença de compostos fenólicos com caráter polar, como os ácidos fenólicos, que possuem baixa solubilidade e baixa proteção contra a rancificação em óleos; e [2] a presença de muitos compostos fenólicos glicosilados, nos quais a presença do carboidrato interfere diretamente nas propriedades antioxidantes destas substâncias, bem como na solubilidade dos mesmos em óleos (SOOBRAATEE et al., 2005).

#### **5.4.2 Produtos secundários de oxidação**

Os produtos secundários do processo de oxidação dos óleos foram quantificados através da metodologia oficial do índice de *p*-anisidina. Nas figuras 16, 17 e 18 estão representados os valores desse índice para os óleos de açaí, girassol e linhaça,

respectivamente, submetidos ao processo de oxidação a 60°C na presença dos padrões de compostos fenólicos e dos extratos vegetais.

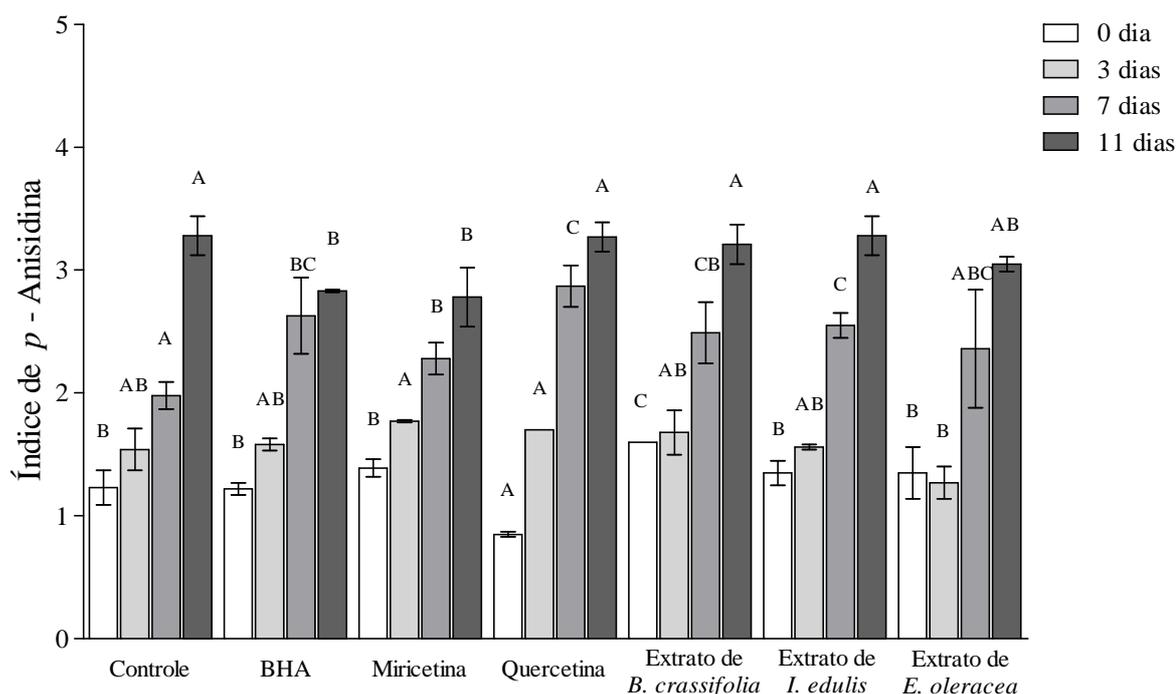
Os óleos de açaí, girassol e linhaça submetidos às condições de oxidação acelerada apresentam valores baixo índice de *p*-anisidina na presença de todos os compostos ou extratos antioxidantes, quando comparados com os valores encontrados por Erkan, Ayranci e Ayranci (2009), que induziram a oxidação do óleo de girassol na presença de extrato de *Rosmarinus officinalis* L.

Analisando os resultados obtidos para as amostras dos óleos de açaí, girassol e linhaça, foi possível verificar que houve aumento na formação de aldeídos independentemente do antioxidante utilizado. No entanto, as amostras de óleo adicionadas de composto padrão miricetina foram as que apresentaram a menor formação dos compostos secundários de oxidação; resultados estes que confirmam o maior potencial preventivo deste composto fenólico como agente antioxidante (SAMRA et al., 2011).

O óleo de girassol foi o que apresentou quantitativamente a menor formação dos produtos secundários de oxidação, seguido do óleo de açaí e do óleo de linhaça, respectivamente; fato este que surpreende, visto que este comportamento era esperado para o óleo de açaí, pois o mesmo apresenta menor concentração de ácidos graxos poli-insaturados os óleos estudados, quando comparado com os outros dois óleos em estudo (CHOE e MIN, 2006; O'BRIEN, 2009).

Os resultados obtidos para as amostras de óleo de açaí (Figura 16) demonstram que não houveram grandes diferenças para as amostras adicionadas com BHA ou com os extratos vegetais de *I. edulis* e *E. oleracea*; também ocorreu semelhança de comportamento após o terceiro dia de ensaio oxidativo entre as amostras adicionadas com padrão de quercetina e as amostras acrescidas com extrato de *B. crassifolia*.

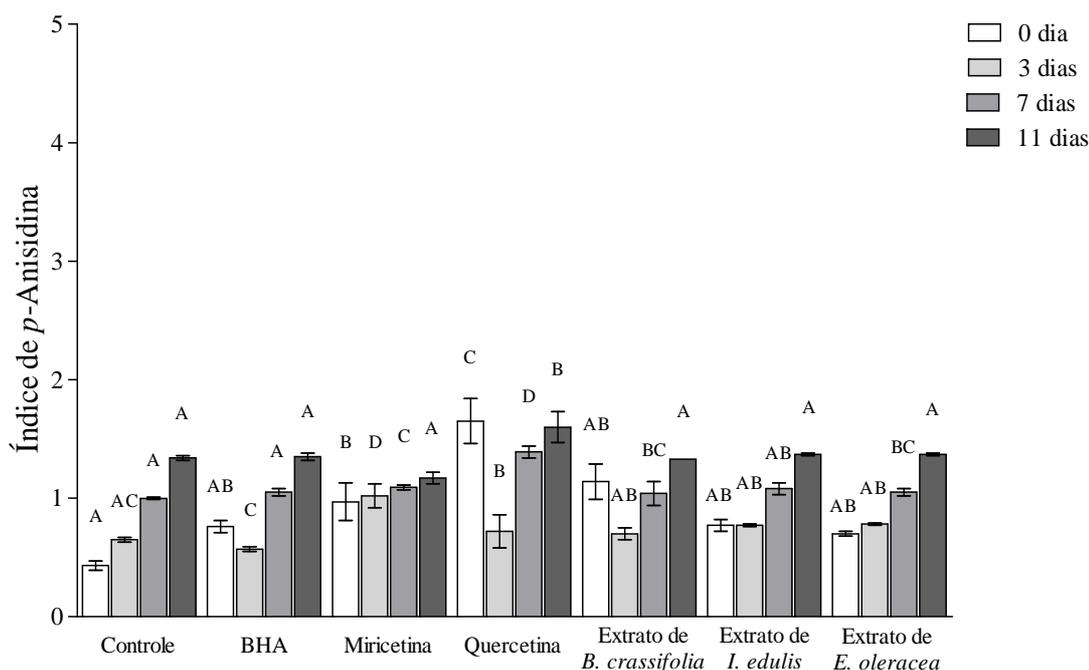
As amostras do controle, óleo que não recebeu adição de nenhum composto ou extrato antioxidante, foram as que apresentaram as maiores taxas de formação de aldeídos.



**Figura 16.** Evolução do valo de *p*-anisidina do óleo de açai durante a cinética na presença de 100 ppm de palmitato de ascorbila e de 100 ppm de antioxidante ou de equivalente compostos fenólicos para os extratos. Média entre os antioxidantes e para um mesmo tempo apresentam letras maiúsculas diferentes (A, B, C...), quando diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Os valores encontrados do índice de *p*-anisidina para o óleo de girassol (Figura 17) indicam uma baixa taxa de formação dos aldeídos para as amostras adicionadas com padrão de miricetina, porém as amostras que continham a quercetina como antioxidante apresentaram valores equivalentes aos encontrados para as amostras do controle.

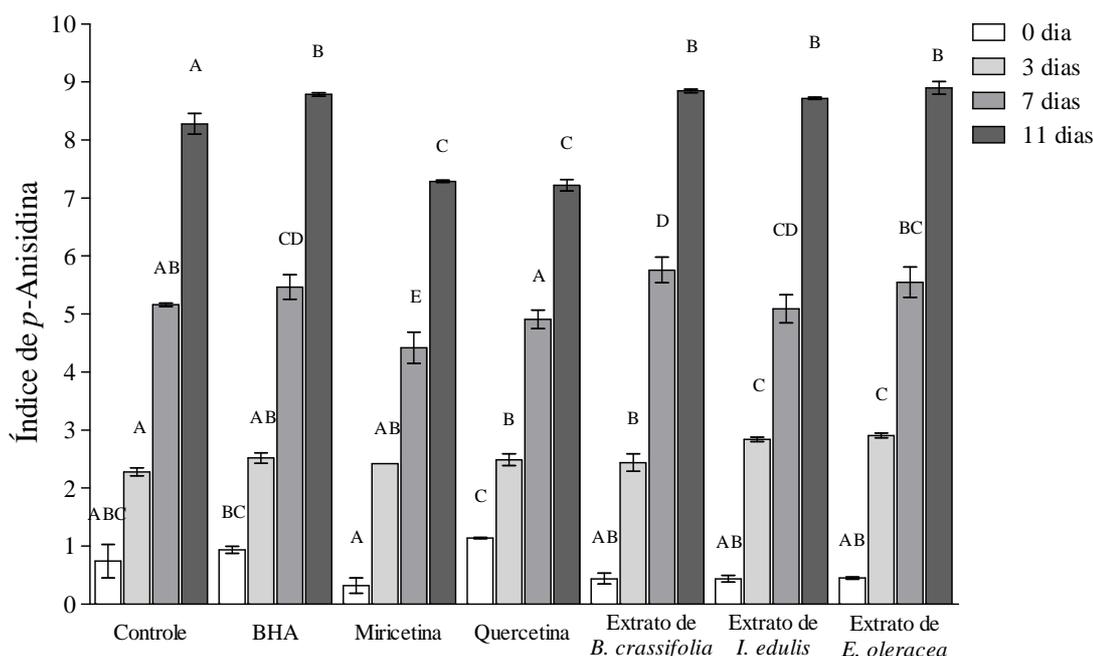
Os resultados obtidos para a formação dos produtos secundário de oxidação demonstram que não houveram grandes diferenças para as amostras adicionadas com os extratos vegetais de *B. crassifolia*, *I. edulis* e *E. oleracea*; também ocorreu semelhança de comportamento durante o ensaio oxidativo entre as amostras controle e as adicionadas com BHA.



**Figura 17.** Evolução do valo de *p*-anisidina do óleo de girassol durante a cinética na presença de 100 ppm de palmitato de ascorbila e de 100 ppm de antioxidante ou de equivalente compostos fenólicos para os extratos. Média entre os antioxidantes e para um mesmo tempo apresentam letras maiúsculas diferentes (A, B, C...), quando diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Os resultados de índice de *p*-anisidina para o óleo de linhaça (Figura 18) indicam uma maior formação dos produtos secundários durante o ensaio de oxidação, independentemente se a amostras foi ou não adicionada de padrões de compostos fenólicos ou extratos vegetais antioxidantes.

Os padrões de compostos fenólicos de miricetina e de quercetina foram os antioxidantes que apresentaram a maior atividade na redução da formação dos aldeídos. No entanto, não houve diferença na redução da formação dos produtos secundários nas amostras adicionadas de BHA, *B. crassifolia*, *E. oleracea* e *I. edulis*.



**Figura 18.** Evolução do valo de p-anisidina do óleo de linhaça durante a cinética na presença de 100 ppm de palmitato de ascorbila e de 100 ppm de antioxidante ou de equivalente compostos fenólicos para os extratos. Média entre os antioxidantes e para um mesmo tempo apresentam letras maiúsculas diferentes (A, B, C...), quando diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

### 5.4.3 Perfil dos ácidos graxos

Outro parâmetro utilizado para a observação da possível proteção dos antioxidantes adicionados aos óleos de açaí, girassol e linhaça foi o monitoramento do perfil de ácidos graxos durante a cinética de oxidação.

Observado os resultados de porcentagens médias de cada ácido graxo do óleo bruto de açaí (Tabela 16), foi possível verificar que os ácidos graxos poli-insaturados, foram os que apresentaram redução significativa ao longo da cinética de oxidação, exceto para as amostras adicionadas de padrão de quercetina.

Comparando a proteção dos diferentes padrões de compostos fenólicos e extratos vegetais utilizados, foi possível verificar que as amostras adicionadas com BHA, padrão de miricetina e os extratos de *B. crassifolia*, *I. edulis* e *E. oleracea* apresentaram comportamento semelhante de degradação dos ácidos graxos.

**Tabela 16.** Perfil dos ácidos graxos do óleo de açaí durante a cinética na presença de 100 ppm de palmitato de ascorbila e de 100 ppm de antioxidante ou de equivalente compostos fenólicos para os extratos.

<b>Tempo 0 dia</b>							
Ácido graxo	Controle	BHA	Miricetina (padrão)	Quercetina (padrão)	Extrato de <i>B. crassifolia</i>	Extrato de <i>I. edulis</i>	Extrato de <i>E. oleracea</i>
C16:0	20,41 <sup>a</sup>	20,64 <sup>a</sup>	20,20 <sup>a</sup>	20,48 <sup>a</sup>	20,18 <sup>a</sup>	20,29 <sup>a</sup>	20,67 <sup>a</sup>
C16:1	3,44 <sup>a</sup>	3,48 <sup>a</sup>	3,49 <sup>a</sup>	3,48 <sup>a</sup>	3,48 <sup>a</sup>	3,58 <sup>a</sup>	3,48 <sup>a</sup>
C18:0	1,33 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	1,29 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>
C18:1	63,93 <sup>a</sup>	63,72 <sup>a</sup>	63,95 <sup>a</sup>	63,71 <sup>a</sup>	63,72 <sup>a</sup>	63,94 <sup>a</sup>	63,66 <sup>a</sup>
C18:2	10,28 <sup>a</sup>	10,22 <sup>a</sup>	10,39 <sup>a</sup>	10,40 <sup>a</sup>	10,69 <sup>a</sup>	10,52 <sup>a</sup>	10,20 <sup>a</sup>
C18:3	0,52 <sup>a</sup>	0,54 <sup>a</sup>	0,55 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,58 <sup>a</sup>
C20:0	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>
<b>Tempo 3 dias</b>							
C16:0	20,30 <sup>a</sup>	20,72 <sup>a</sup>	20,49 <sup>a</sup>	20,16 <sup>a</sup>	20,48 <sup>a</sup>	20,77 <sup>a</sup>	20,84 <sup>a</sup>
C16:1	3,73 <sup>a</sup>	3,53 <sup>a</sup>	3,52 <sup>a</sup>	3,45 <sup>a</sup>	3,49 <sup>a</sup>	3,55 <sup>a</sup>	3,55 <sup>a</sup>
C18:0	1,24 <sup>a</sup>	1,34 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	1,27 <sup>a</sup>	1,37 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	1,36 <sup>a</sup>
C18:1	63,74 <sup>a</sup>	63,43 <sup>a</sup>	63,83 <sup>a</sup>	63,09 <sup>a</sup>	63,91 <sup>a</sup>	63,27 <sup>a</sup>	63,29 <sup>a</sup>
C18:2	10,40 <sup>a</sup>	10,37 <sup>a</sup>	10,20 <sup>b</sup>	11,46 <sup>a</sup>	10,19 <sup>a</sup>	10,34 <sup>b</sup>	10,33 <sup>a</sup>
C18:3	0,46 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,53 <sup>a</sup>	0,46 <sup>a</sup>	0,47 <sup>a</sup>	0,65 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>
C20:0	0,06 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>
<b>Tempo 7 dias</b>							
C16:0	20,35 <sup>a</sup>	20,89 <sup>a</sup>	20,80 <sup>a</sup>	20,49 <sup>a</sup>	21,11 <sup>a</sup>	20,93 <sup>a</sup>	20,76 <sup>a</sup>
C16:1	3,52 <sup>a</sup>	3,55 <sup>a</sup>	3,56 <sup>a</sup>	3,54 <sup>a</sup>	3,62 <sup>a</sup>	3,59 <sup>a</sup>	3,54 <sup>a</sup>
C18:0	1,28 <sup>a</sup>	1,35 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	1,33 <sup>a</sup>	1,29 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>
C18:1	64,15 <sup>a</sup>	63,58 <sup>a</sup>	63,70 <sup>a</sup>	63,78 <sup>a</sup>	63,48 <sup>b</sup>	63,57 <sup>a</sup>	63,75 <sup>a</sup>
C18:2	10,13 <sup>a</sup>	10,10 <sup>a</sup>	10,02 <sup>c</sup>	10,04 <sup>a</sup>	9,88 <sup>b</sup>	9,93 <sup>b</sup>	9,93 <sup>a</sup>
C18:3	0,50 <sup>a</sup>	0,48 <sup>b</sup>	0,51 <sup>a</sup>	0,52 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,49 <sup>a</sup>
C20:0	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>
<b>Tempo 11 dias</b>							
C16:0	20,54 <sup>a</sup>	21,16 <sup>a</sup>	21,14 <sup>a</sup>	20,44 <sup>a</sup>	21,20 <sup>a</sup>	21,14 <sup>a</sup>	21,07 <sup>a</sup>
C16:1	3,56 <sup>a</sup>	3,64 <sup>a</sup>	3,59 <sup>a</sup>	3,60 <sup>a</sup>	3,60 <sup>a</sup>	3,59 <sup>a</sup>	3,59 <sup>a</sup>
C18:0	1,29 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	1,45 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>	1,32 <sup>a</sup>	1,31 <sup>a</sup>
C18:1	64,30 <sup>a</sup>	63,69 <sup>a</sup>	63,56 <sup>a</sup>	62,19 <sup>a</sup>	63,67 <sup>b</sup>	63,56 <sup>a</sup>	64,46 <sup>a</sup>
C18:2	9,70 <sup>b</sup>	9,68 <sup>b</sup>	9,80 <sup>d</sup>	11,70 <sup>a</sup>	9,62 <sup>b</sup>	9,82 <sup>b</sup>	9,01 <sup>b</sup>
C18:3	0,49 <sup>a</sup>	0,46 <sup>b</sup>	0,49 <sup>a</sup>	0,50 <sup>a</sup>	0,50 <sup>a</sup>	0,48 <sup>a</sup>	0,49 <sup>a</sup>
C20:0	0,06 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>

Média entre os tempos e para um mesmo ácido graxos apresentam letras minúsculas diferentes (a, b, c...), quando diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Observados os resultados de perfil de ácidos graxos encontrados para o óleo de girassol (Tabela 17). Em termos globais, verificou-se que a redução nas concentrações das concentrações dos ácidos graxos que fazem parte deste óleo ocorreu a partir do terceiro dia da cinética, onde o ácido linoleico foi o ácido graxo mais prejudicado pelo processo de oxidação.

**Tabela 17.** Perfil dos ácidos graxos do óleo de girassol durante a cinética na presença de 100 ppm de palmitato de ascorbila e de 100 ppm de antioxidante ou de equivalente compostos fenólicos para os extratos.

Tempo 0 dia							
Ácido graxo	Controle	BHA	Miricetina (padrão)	Quercetina (padrão)	Ext. <i>B. crassifolia</i>	Ext. <i>I. edulis</i>	Ext. <i>E. oleracea</i>
C16:0	6,44 <sup>a</sup>	6,02 <sup>a</sup>	5,68 <sup>a</sup>	6,00 <sup>a</sup>	5,96 <sup>a</sup>	5,89 <sup>a</sup>	5,90 <sup>a</sup>
C16:1	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>
C18:0	2,91 <sup>a</sup>	2,93 <sup>a</sup>	2,75 <sup>a</sup>	2,90 <sup>a</sup>	2,84 <sup>a</sup>	2,84 <sup>a</sup>	2,84 <sup>a</sup>
C18:1	24,56 <sup>a</sup>	25,08 <sup>a</sup>	25,27 <sup>a</sup>	24,86 <sup>a</sup>	24,93 <sup>a</sup>	25,33 <sup>a</sup>	25,18 <sup>a</sup>
C18:2	64,62 <sup>a</sup>	65,47 <sup>a</sup>	65,94 <sup>a</sup>	65,10 <sup>a</sup>	65,23 <sup>a</sup>	65,34 <sup>a</sup>	64,96 <sup>a</sup>
C18:3	0,09 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>
C20:0	0,22 <sup>a</sup>	0,21 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,21 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,20 <sup>a</sup>
Tempo 3 dias							
C16:0	5,75 <sup>a</sup>	5,63 <sup>b</sup>	5,80 <sup>a</sup>	5,47 <sup>b</sup>	5,75 <sup>a</sup>	5,70 <sup>a</sup>	5,57 <sup>b</sup>
C16:1	0,08 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>
C18:0	2,65 <sup>b</sup>	2,60 <sup>b</sup>	2,77 <sup>a</sup>	2,60 <sup>a</sup>	2,64 <sup>b</sup>	2,67 <sup>b</sup>	2,61 <sup>b</sup>
C18:1	25,56 <sup>b</sup>	25,54 <sup>a</sup>	25,48 <sup>a</sup>	25,37 <sup>a</sup>	25,30 <sup>b</sup>	25,43 <sup>a</sup>	25,40 <sup>a</sup>
C18:2	67,73 <sup>a</sup>	66,44 <sup>a</sup>	65,79 <sup>a</sup>	66,87 <sup>a</sup>	67,80 <sup>b</sup>	66,25 <sup>a</sup>	66,18 <sup>a</sup>
C18:3	0,10 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,09 <sup>ab</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,12 <sup>b</sup>
C20:0	0,20 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>	0,20 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>	0,16 <sup>c</sup>
Tempo 7 dias							
C16:0	6,08 <sup>a</sup>	5,98 <sup>a</sup>	5,94 <sup>a</sup>	5,62 <sup>ab</sup>	6,01 <sup>a</sup>	5,63 <sup>a</sup>	5,80 <sup>ab</sup>
C16:1	0,09 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,41 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>
C18:0	2,77 <sup>b</sup>	2,72 <sup>c</sup>	2,82 <sup>a</sup>	2,67 <sup>a</sup>	2,78 <sup>ab</sup>	2,68 <sup>b</sup>	2,69 <sup>b</sup>
C18:1	25,45 <sup>a</sup>	25,58 <sup>a</sup>	25,34 <sup>a</sup>	25,26 <sup>a</sup>	25,34 <sup>a</sup>	25,30 <sup>a</sup>	25,40 <sup>a</sup>
C18:2	65,32 <sup>a</sup>	65,76 <sup>a</sup>	65,58 <sup>a</sup>	65,98 <sup>a</sup>	65,49 <sup>a</sup>	66,24 <sup>a</sup>	65,90 <sup>a</sup>
C18:3	0,11 <sup>a</sup>	0,14 <sup>a</sup>	0,08 <sup>ab</sup>	0,11 <sup>ab</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,06 <sup>b</sup>
C20:0	0,18 <sup>a</sup>	0,17 <sup>b</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,17 <sup>b</sup>	0,17 <sup>b</sup>	0,15 <sup>b</sup>
Tempo 11 dias							
C16:0	5,91 <sup>a</sup>	5,91 <sup>b</sup>	6,09	5,85 <sup>ab</sup>	5,91 <sup>a</sup>	6,15 <sup>a</sup>	5,70 <sup>ab</sup>
C16:1	0,09 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,07 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>
C18:0	2,80 <sup>b</sup>	2,76 <sup>c</sup>	2,82 <sup>a</sup>	2,78 <sup>a</sup>	2,71 <sup>b</sup>	2,81 <sup>a</sup>	2,73 <sup>b</sup>
C18:1	25,67 <sup>a</sup>	25,49 <sup>a</sup>	25,63 <sup>a</sup>	25,48 <sup>a</sup>	25,27 <sup>a</sup>	25,56 <sup>a</sup>	25,40 <sup>a</sup>
C18:2	65,24 <sup>a</sup>	65,51 <sup>a</sup>	65,37 <sup>a</sup>	65,51 <sup>a</sup>	65,75 <sup>a</sup>	65,13 <sup>a</sup>	65,81 <sup>a</sup>
C18:3	0,11 <sup>a</sup>	0,08 <sup>a</sup>	0,07 <sup>b</sup>	0,13 <sup>ab</sup>	0,11 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>
C20:0	0,18 <sup>b</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,19 <sup>a</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,18 <sup>b</sup>	0,17 <sup>b</sup>	0,17 <sup>b</sup>

Média entre os tempos e para um mesmo ácido graxos apresentam letras minúsculas diferentes (a, b, c...), quando diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

Observando a proteção dos diferentes padrões de compostos fenólicos e extratos vegetais utilizados, foi possível verificar que todos os compostos antioxidantes apresentaram comportamento semelhante de degradação dos ácidos graxos.

Supreendentemente o ácido aracdíco foi o que apresentou maior redução em sua porcentagem em termos globais, fato não e a esperando em virtude do menos se tratar de um ácido graxo saturado.

Na tabela 18 são apresentados os valores de concentração dos ácidos graxos que constituem o óleo de linhaça durante o processo de oxidação.

Os resultados do perfil de ácidos graxos do óleo de linhaça na presença dos diferentes padrões de compostos fenólicos e extratos vegetais antioxidantes demonstraram que a oxidação ocorreu principalmente acima do ácido linolênico. Este comportamento de degradação era esperado, pois os mesmo possui um maior número de grupos metilenos em comparação com os outros ácidos graxo desta matriz, fato que o torna mesmo mais susceptível ao processo de oxidação (CHOE e MIN, 2006; O'BRIEN, 2009).

**Tabela 18.** Perfil dos ácidos graxos do óleo de linhaça durante a cinética na presença de 100 ppm de palmitato de ascorbila e de 100 ppm de antioxidante ou de equivalente compostos fenólicos para os extratos.

Tempo 0 dia							
Ácido graxo	Controle	BHA	Miricetina (padrão)	Quercetina (padrão)	Ext. <i>B. crassifolia</i>	Ext. <i>I. edulis</i>	Ext. <i>E. oleracea</i>
C16:0	4,51 <sup>a</sup>	4,72 <sup>a</sup>	4,88 <sup>a</sup>	4,69 <sup>a</sup>	4,70 <sup>a</sup>	4,71 <sup>a</sup>	4,65 <sup>a</sup>
C16:1	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>
C18:0	2,91 <sup>a</sup>	2,93 <sup>a</sup>	2,82 <sup>a</sup>	2,95 <sup>a</sup>	2,95 <sup>a</sup>	2,97 <sup>a</sup>	2,92 <sup>a</sup>
C18:1	17,87 <sup>a</sup>	17,93 <sup>a</sup>	17,85 <sup>a</sup>	18,03 <sup>a</sup>	18,05 <sup>a</sup>	17,99 <sup>a</sup>	17,50 <sup>a</sup>
C18:2	16,45 <sup>a</sup>	16,53 <sup>a</sup>	16,87 <sup>a</sup>	16,49 <sup>a</sup>	16,49 <sup>a</sup>	16,41 <sup>a</sup>	16,65 <sup>a</sup>
C18:3	58,13 <sup>a</sup>	57,74 <sup>a</sup>	57,45 <sup>a</sup>	57,72 <sup>a</sup>	57,69 <sup>a</sup>	57,78 <sup>a</sup>	58,12 <sup>a</sup>
C20:0	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>
Tempo 3 dias							
C16:0	4,99 <sup>a</sup>	4,44 <sup>a</sup>	4,55 <sup>a</sup>	4,63 <sup>a</sup>	4,55 <sup>a</sup>	4,61 <sup>a</sup>	4,51 <sup>a</sup>
C16:1	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>
C18:0	2,82 <sup>a</sup>	2,92 <sup>a</sup>	2,91 <sup>a</sup>	2,94 <sup>a</sup>	2,88 <sup>a</sup>	2,93 <sup>a</sup>	2,85 <sup>a</sup>
C18:1	18,00 <sup>b</sup>	18,05 <sup>b</sup>	18,09 <sup>b</sup>	18,19 <sup>a</sup>	17,88 <sup>a</sup>	18,18 <sup>b</sup>	17,69 <sup>a</sup>
C18:2	16,59 <sup>a</sup>	16,58 <sup>a</sup>	16,79 <sup>a</sup>	16,68 <sup>a</sup>	16,46 <sup>a</sup>	16,73 <sup>a</sup>	16,44 <sup>a</sup>
C18:3	57,49 <sup>a</sup>	57,89 <sup>a</sup>	57,53 <sup>a</sup>	57,43 <sup>a</sup>	58,11 <sup>a</sup>	57,43	58,38 <sup>a</sup>
C20:0	0,07 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>
Tempo 7 dias							
C16:0	4,81 <sup>a</sup>	4,97 <sup>a</sup>	4,93 <sup>a</sup>	5,09 <sup>a</sup>	4,94 <sup>a</sup>	5,02 <sup>a</sup>	4,87 <sup>a</sup>
C16:1	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>
C18:0	2,98 <sup>a</sup>	3,07 <sup>a</sup>	3,07 <sup>a</sup>	3,07 <sup>a</sup>	3,07 <sup>a</sup>	3,05 <sup>b</sup>	3,00 <sup>a</sup>
C18:1	19,33 <sup>b</sup>	18,53 <sup>b</sup>	18,64 <sup>b</sup>	18,66 <sup>a</sup>	18,47 <sup>a</sup>	18,58 <sup>b</sup>	18,00 <sup>a</sup>
C18:2	16,63 <sup>a</sup>	16,89 <sup>a</sup>	16,83 <sup>a</sup>	17,71 <sup>b</sup>	16,74 <sup>a</sup>	16,79 <sup>a</sup>	17,29 <sup>a</sup>
C18:3	56,12 <sup>b</sup>	56,39 <sup>b</sup>	56,41 <sup>b</sup>	55,33 <sup>b</sup>	56,64 <sup>b</sup>	56,42	56,68 <sup>b</sup>
C20:0	0,09 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>
Tempo 11 dias							
C16:0	4,11 <sup>a</sup>	4,86 <sup>a</sup>	5,12 <sup>a</sup>	4,88 <sup>a</sup>	4,76 <sup>a</sup>	5,00 <sup>a</sup>	4,82 <sup>a</sup>
C16:1	0,04 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,04 <sup>a</sup>	0,05 <sup>a</sup>
C18:0	3,09 <sup>a</sup>	2,95 <sup>b</sup>	3,21 <sup>a</sup>	3,21 <sup>b</sup>	3,03 <sup>a</sup>	3,00 <sup>b</sup>	3,05 <sup>a</sup>
C18:1	18,69 <sup>b</sup>	18,29 <sup>b</sup>	18,29 <sup>b</sup>	17,71 <sup>b</sup>	17,79 <sup>b</sup>	17,68 <sup>b</sup>	17,65 <sup>a</sup>
C18:2	16,92 <sup>a</sup>	16,41 <sup>a</sup>	16,93 <sup>a</sup>	16,95 <sup>a</sup>	16,84 <sup>b</sup>	16,72 <sup>a</sup>	16,85 <sup>a</sup>
C18:3	57,05 <sup>b</sup>	57,49 <sup>b</sup>	56,31 <sup>b</sup>	57,11 <sup>b</sup>	57,37 <sup>b</sup>	56,40 <sup>b</sup>	57,48 <sup>b</sup>
C20:0	0,10 <sup>a</sup>	0,00 <sup>b</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,10 <sup>a</sup>	0,09 <sup>a</sup>	0,10

Média entre os tempos e para um mesmo ácido graxos apresentam letras minúsculas diferentes (a, b, c...), quando diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) pelo teste de Tukey.

As amostras de óleo de linhaça adicionadas com extrato de *I. edulis* e padrão de miricetina, bem como as amostras do controle apresentaram as maiores percas quantitativas

de ácidos graxos para o ácido linolênico. Outro ponto a se destacar durante o ensaio de oxidação acelerada do óleos de linhaça foi a perda total para o ácido araquídico (C20:0) nas amostras adicionadas com extrato de BHA nos últimos dias da cinética..

## 6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados encontrados neste estudo de avaliação da estabilidade oxidativa a 60°C de três óleos alimentícios adicionados de padrões de compostos fenólicos e extratos vegetais amazônicos enriquecidos em compostos fenólicos, foi possível concluir que:

Os óleos alimentícios de girassol e linhaça utilizados neste trabalho estavam de acordo com os padrões de identidade e qualidade para óleos, entretanto o mesmo não pôde ser atribuído ao óleo de açaí.

A caracterização dos extratos lipofílicos de *B. crassifolia*, *E. oleracea* e *I. edulis* quanto ao teor de compostos fenólicos e de capacidade antioxidante, revelaram o alto teor de compostos fenólicos e de capacidade antioxidante pelo método ORAC. Quanto ao perfil dos compostos fenólicos, todos os extratos apresentaram elevada concentração de ácido gálico e de compostos glicosilados como quercetina-3-*O*- $\alpha$ -L-glicosídeo, miricetina-3-*O*- $\alpha$ -L-raminopiranosídeo e cianidina-3-*O*-glicosídeo.

O processo de remoção dos compostos antioxidantes naturais dos óleos com auxílio de alumina reduziu em média aproximadamente 34, 43 e 40% o valor DPPH dos óleos de açaí, girassol e linhaça, respectivamente. O processo de remoção dos compostos antioxidantes naturais resultou em uma maior susceptibilidade dos óleos a oxidação lipídica.

Comparando todos os antioxidantes utilizados durante a cinética de oxidação do óleo de açaí, verificou-se que apenas o padrão de miricetina apresentou a capacidade de retardar o processo oxidativos até o terceiro dia de ensaio. Todavia, os mesmos resultados não foram observados para os outros dois óleos.

Os extratos de *B. crassifolia*, *E. oleracea* e *I. edulis* apesar do seu promissor perfil de polifenóis totais e capacidade antioxidante, não apresentaram capacidade preventiva contra o processo de oxidação lipídica nos três óleos em estudo.

Os resultados encontrados na cinética de oxidação confirmam que fatores como o número e as posições dos grupos hidroxila (OH) e de outros substituintes, em particular de carboidratos, interferem decisivamente na atividade/capacidade antioxidante dos compostos fenólicos.

## REFERÊNCIAS

ALVES, G. L.; FRANCO, M. R. B. Headspace gas chromatography–mass spectrometry of volatile compounds in murici (*Byrsonima crassifolia* L. Rich). **Journal of Chromatography A**, v. 985, p. 297-301, 2003.

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos**. 4ªEd. Viçosa-MG, Brasil: Ed. UFV, p. 15-117, 2008.

AOCS – **American Oil Chemists Society**. Official Methods of Analysis. Illinois, USA. 2002.

AREVALO-PINEDO, A.; SANTOS, F. L.; AREVALO, Z. D. S.; ZUNIGA, A. D. G.; PINEDO, R. A. Desorption isotherms for murici (*Byrsonima sericea*) and inga (*Inga edulis*) pulps. **Journal of Food Engineering**. v. 76, p. 611-615, 2006.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**. v. 99, p. 191-203, 2006.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. 4ªEd. Berlin, Alemanha: Ed. Springer, p. 456-458. 2009.

BENSMIRA, M.; JIANG, B.; NSABIMANA, C.; JIAN T. Effect of Lavender and Thyme incorporation in sunflower seed oil on its resistance to frying temperatures. **Food Research International**. v. 40, p. 341-346, 2007.

BOUAZIZ, B.; FKI, I.; JEMAI, H.; AYADI, M.; SAYADI, S. Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. **Food Chemistry**. v. 108, p. 253-262, 2008.

BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais (RDC nº 270 de 22/09/2005)**. Brasília-DF. 2005a.

BRASIL. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico para Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e creme Vegetal**. Brasília-DF, 2005b.

BRÜHL, L.; MATTHÄUS, B.; FEHLING, E.; WIEGE, B.; LEHMANN, B.; LUFTMANN, H.; BERGANDER, K.; QUIROGA, K.; SCHEIPERS, A.; FRANK, O.; HOFMANN, T. Identification of bitter off-taste compounds in the stored cold pressed linseed oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, p. 7864-7868, 2007.

CAI, Y. Z.; SUN, M.; XING, J.; LUO, Q.; CORKE, H. Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional chinese medicinal plants. **Life Science**. v. 78, p. 2872-2888, 2006.

CAO, G.; PRIOR, R.L. Measurement of oxygen radical absorbance capacity in biological samples. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 50-62, 1999.

CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C.; AGUIAR, C. L. Modificações de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**. v. 27, n. 1, p. 146-156, 2004.

CAVALCANTE, P. B. **Frutas comestíveis da Amazônia**. 5ª Ed. Belém-PA, Brasil: Museu Paraense Emílio Goeldi. Publicações avulsas. n° 33, p. 89-90, 1991.

CHANG, C. C.; YANG, M. H.; WEN, M. H.; CHERN, J. C. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. **Journal of Food and Drug Analysis**. v. 10, n. 3, p. 178-182, 2002.

CHOE, E.; MIN, D.B. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, n. 4, p. 169-186, 2006.

COÏSSON, J. D.; TRAVAGLIA, F.; PIANA, G.; CAPASSO, M.; ARLORIO, A. *Euterpe oleracea* juice as a functional pigment for yogurt. **Food Research International**. v. 38, p. 893-897, 2005.

CUEVAS, M. S.; RODRIGUES, C. E. C.; MEIRELLES, A. J. A. Effect of solvent hydration and temperature in the deacidification process of sunflower oil using ethanol. **Journal of Food Engineering**. v. 95, p. 291-297, 2009.

DECKER, E. A. Antioxidant Mechanisms. In: AKOHI, C. C.; MIN, D. B. **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. 3ª Ed. Boca Raton, FL: CRC Press. p. 475-492, 2008.

DELCOUR, J. A.; DEVAREBEKE, D. J.; A new colorimetric assay for flavonoids in pilsner beers. **Journal of the Institute of Brewing**. v. 91, n. 1, p. 37-40, 1995.

DIJK, C. V.; DRIESSEN, A. J. M.; RE COURT, K. The uncoupling efficiency and affinity of flavonoids for vesicles. **Biochemical Pharmacology**. v. 60, p. 1593-1600, 2000.

ERHAN, S. Z.; ADHVARYU, A. Non-Food Lipids. In: MARPHY, D. J. **Plant lipids**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005.

ERKAN, N.; AYRANCI, G.; AYRANCI, E. A kinetic study of oxidation development in sunflower oil under microwave heating: Effect of natural antioxidant. **Food Research International**. v. 42, p. 1171-1177, 2009.

FIGUEIREDO, M. E.; MICHELIN, D. C.; SANNOMIYA, M.; SILVA, M. A.; SANTOS, L. C.; ALMEIDA, L. F. R.; BRITO, A. R. M S.; HERIDA, R. N.; SALGADO, H. R. N.; VILEGAS, W. Avaliação química e da atividade antidiarréica das folhas de *Byrsonima cinera* DC. (Malpighiaceae). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 41, n. 1, 2005.

FRUTOS, M. J.; HERNÁNDEZ-HERRERO, J. A. Effects of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*) on the stability of bread with an oil, garlic and parsley dressing. **Food Science and Technology**. v. 38, p. 651-655, 2005.

GIRALDO-ZUNIGA, A. D.; ARÉVALO-PINEDO, A.; REZENDE, J. R.; SILVA, C. S.; MONTEIRO J. A. Drying kinetics for murici (*Byrsonima Crassifolia*) fruit. **Journal of Food Processing and Preservation**. v. 30, p. 699-705, 2006.

GRAMZA, A.; KORCZAK, J. Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. **Food Science Technology**. v. 16, p. 351-358, 2005.

GUNSTONE, F. D. Production and trade of vegetable oils. In: GUNSTONE, F. D. **Vegetable oils in food technology – Composition, properties and uses**. Bora Raton, FL: CRC Press, 2002.

GUPTA, M. K. Sunflower oil. In: GUNSTONE, F. D. **Vegetable oils in food technology – Composition, properties and uses**. Bora Raton, FL: CRC Press, 2002.

HEIN, K. E.; TAGLIAFERRO, A. R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 13, p. 572-584, 2002.

HENDRICH, A. B. Flavonoid-membrane interactions: possible consequences for biological effects of some polyphenolic compounds. **Acta Pharmacologica Sinica**. v. 27, n. 1, p. 27-40. 2006.

HERNÁNDEZ, I.; ALEGRE, L.; VAN-BREUSEGEM, F.; MUNNÉ-BOSCH, S. How relevant are flavonoids as antioxidants in plants? **Trens in Plant Science**. v. 14, n. 3, p. 125-132, 2009.

HUANG, D.; OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M. F.; JUDITH, A.; PRIOR, R. L.; High-Throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 55, p. 4437-4444, 2002.

IQBAL, S.; HALEEN, S.; AKHTAR, M.; ZIA-UL-HAQ, M.; AKBAR, J. Efficiency of pomegranate peel extracts in stabilization of sunflower oil under accelerated conditions. **Food Research international**. v. 41, p. 194-200, 2008.

JARDIM, M. A. G.; MOURÃO, L.; GROSSMANN, M. **Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.): possibilidades e limites para o desenvolvimento sustentável no estuário amazônico**. Belém-PA: Editora MPEG. p. 181-195, 2004.

JORGE, N.; SOARES, B. B. P.; LUNARDI, V. M.; MALACRIDA, M. R. Alterações físico-químicas dos óleos de girassol, milho, soja em frutas. **Química Nova**. v. 28, n. 6, p. 947-951, 2005.

KAJIYA, K.; ICHIBA, M.; KUMAZAWA, S.; NAKAYAMA, T. Role of lipophilicity and hydrogen peroxide formation in the cytotoxicity of flavonols. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**. v. 65, p. 1227-1229, 2001.

KATO, R.; KAJIYA, K.; TOKUMOTO, H.; KUMAZAWA, S.; NAKAYAMA, T. Affinity of isoflavonoides for lipid bilayers evaluated with liposomal systems. **Biofactors**. v. 19. p.179-187. 2003.

KAMAL-ELDIN, A.; MÄKINEN, M.; LAMPI, A. M. The challenging contribution of hydroperoxides to the lipids oxidation mechanism. In: KAMAL-ELDIN, A. **Lipids Oxidation Pathways**. Champaign, IL: AOCS Press, 2003.

KANYA, T. C. S.; RAO, L. J.; SASTRY, M C. S. Characterization of wax esters, free fatty alcohols and free fatty acids of crude wax from sunflower seed oil refineries. **Food Chemistry**. v. 101, p. 1552-1557, 2007.

KOCHHAR, S. P. Sesame, Rice-bran and flaxseed. In: GUNSTONE, F. D. **Vegetable oils in food technology – Composition, properties and uses**. Boca Raton, FL: CRC Press, 2002.

KOLAKOWSKA, A. Lipid Oxidation in Food Systems. In: SIKORSKI, Z. E., KOLAKOWSKA, A. **Chemical and Functional Properties of Food Lipids**. Boca Raton, FL: AOCS Press, 2002.

LAGUERRE, M.; LECOMTE, J.; VILLENEUVE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in lipid research**. v. 46, p. 244-282, 2007.

LEBLANC, A. H.; MCGRAW, R. L.; NYGREN, P.; ROUX, C. L. Neotropical legume tree *Inga edulis* forms N<sub>2</sub>-fixing symbiosis with fast-growing Bradyrhizobium strains. **Plant and Soil**. v. 275, p. 123–133, 2005.

LEE, S. W.; JEUNG, M. K.; PARK, M. H.; LEE, S. Y.; LEE, J. H. Effects of roasting conditions of sesame seeds on the oxidative stability of pressed oil during thermal oxidation. **Food Chemistry**. v. 118, p. 681-685, 2010.

LIZCANO, L. J.; BAKKALI, F.; RUIZ-LARREA, M. B.; RUIZ-SANZ, J. I. Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. **Food Chemistry**. v. 119, p. 1566-1570, 2010.

MALTESE, F.; ERKELENS, C.; VAN DER KOOY, F.; CHOI, Y. H.; VERPOORTE, R. Identification of natural epimeric flavanone glycosides by NMR spectroscopy. **Food Chemistry**. v. 116, p. 575-579, 2009.

MAQSOOD, S.; BENJAKUL, S. Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. **Food Chemistry**. v. 119, p. 123-132, 2010.

MARTÍNEZ-VÁZQUEZ, M.; GONZÁLEZ-ESQUINCA, A. R.; CAZARES LUNA, L.; MORENO GUTIÉRREZ, M. N.; GARCÍA-ARGÁEZ, A.N. Antimicrobial activity of *Byrsonima crassifolia* (L.) H.B.K. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 66, p. 79–82, 1999.

MATKOWSKI, A. Plant in vitro culture for the production of antioxidants - A review. **Biotechnology Advances**. v. 26, p. 548-560, 2008.

MEURENS, M.; BAETEN, V.; YAN, S. H.; MIGNOLET, E.; LARONDELLE, Y. Determination of the conjugated linoleic acids in cow's milk fat by fourier transform Raman spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 53, p. 5831-5835, 2005.

MC CARTHY T. L.; KERRY J. P.; LYNCH P. B.; BUCKLEY D. J. Assessment of the antioxidant potential of natural food and plant extracts in fresh and previously frozen pork patties. **Meat Science**. v. 57. p. 177-184. 2001.

MICHOTTE, D.; ROGEZ, H.; CHIRINOS, R.; MIGNOLET, E.; CAMPOS, D.; LARONDELLE, Y. Linseed stabilization with pure natural phenolic compounds. **Food Chemistry**. v. 129, n. 1, 2011.

MIEAN, K. H.; MOHAMED, S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 49, p. 3106-3112, 2001.

MORRIS, M. E.; ZHANG S. Flavonoid–drug interactions: Effects of flavonoids on ABC transporters. **Life Sciences**. v. 78. p. 2116–2130, 2006.

MOURE, A.; CRUZ, J. M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J. M.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑES, M. J.; PARAJÓ, J. C. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**. v. 72, p. 145-171, 2001.

NAKAYAMA, T.; KAJIYA, K.; KUMAZAWA, S. Interaction of planar polyphenols with liposomes. In: LIU, A. L. **Advance in planar lipid bilayers and liposomes**. San Diego, CA: Elsevier Inc. v. 4, p. 107-133, 2006.

NASCIMENTO, W. M. O.; SILVA, R. W. R. Comportamento fisiológico de sementes de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) submetidas a desidratação. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 27, n. 3, p. 349-351, 2005.

NASCIMENTO, R. J. S.; COURI, S.; ANTONIASSI, R.; FREITAS, S. P. Composição em ácidos graxos do óleo da polpa de açaí extraído com enzima e com hexano. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 30, n. 2, p. 498-502, 2008.

O'BRIEN, R. D. **Fat and oils: formulating and processing for applications**. 3ª Ed. Bora Raton, FL: CRC Press, 2009.

O'CONNELL, J. E.; FOX, P. F. Significance and applications of phenolic compounds in the production and quality of milk and dairy products: a review. **International Dairy Journal**. v. 11, p. 103–120, 2001.

OLIVEIRA, M. S. P.; CARVALHO, J. E. U.; NASCIMENTO, W. M. O. **Açaí** (*Euterpe oleracea* Mart.). Jaboticabal-SP: Funep. p. 1-9, 2000.

ORWA, C.; MUTUA, A.; KINDT, R.; JAMNADASS, R.; ANTHONY, S.; *Inga edulis*. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. 2009. Disponível em: <http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/AFT/speciesPrinterFriendlyBot.asp?Id=991>. Acessado em: 01/12/2009.

OTEIZA, P. I.; ERLEJMAN, A. G.; VERSTRAETEN, S. V.; KEEN, C. L.; FRAGA, C. G. Flavonoid-membrane interactions: A protective role of flavonoids at the membrane surface? **Clinical & Developmental Immunology**. v. 12, n. 1, p. 19-25, 2005.

OU, B.; HAMPSCH-WOODILL, M. F.; PRIOR, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 49, p. 4916-4926, 2001.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; HAWKEN, P.; TALCOTT, S. T. Juice matrix composition and ascorbic acid fortification effects on the phytochemical, antioxidant and pigment stability of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Food Chemistry**. v. 105, p.28-35, 2007.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; TALCOTT, S. M.; TALCOTT, S. T. Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 56, p. 4631-4636, 2008.

PAIXÃO, N.; PERESTRELO, R.; MARQUES, J. C.; CÂMARA, J. S. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rose' and white wines. **Food Chemistry**. v. 105, p. 204-214, 2007.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**. v. 63, p. 1035-1042, 2000.

POSSETTE, R. F. S. **O gênero *Inga* Meller (Leguminosae – Mimosoideae) no Estado do Paraná, Brasil**. Curitiba, 2008. 110f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Paraná. 2008.

POULLI, K. I.; MOUSDIS, G. A.; GEORGIU, C. A. Monitoring olive oil oxidation under thermal and UV stress through synchronous fluorescence spectroscopy and classical assays. **Analytical Methods**. v. 117, p. 499-503, 2009.

PRIOR, R. L.; HUANG, H.; GU, L.; WU, X.; BACCHIOCCA, M.; HOWARD, L.; HAMPSCH-WOODILL, M.; HUANG, D.; OU, B.; JACOB, R. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC<sub>FL</sub>) of plasma and other biological and food samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p 3273-3279, 2003.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**. v. 26, n° 4, p. 755-760, 2006.

REISCHE, D. W.; LILLARD, D. A.; EITENMILLER, R. R. Antioxidants. In: AKOH, C. C.; MIN, D. B. **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. 3ª Ed. Boca Raton, FL: CRC Press. p. 409-430, 2008.

REZENDE, C. M.; FRAGA, S. R. G. Chemical and Aroma Determination of the Pulp and Seeds of Murici (*Byrsonima crassifolia* L.). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v. 14, p. 425-428, 2003.

ROCHA, A. P. M.; CARVALHO, L. C. R. M.; SOUSA M. A. V.; MADEIRA, S. V. F.; SOUSA, P. J. C.; TANO, T.; SCHINI-KERTH, V. B.; RESENDE, A. C.; SOARES DE MOURA. Endothelium-dependent vasodilator effect of *Euterpe oleracea* Mart. (Açaí) extracts in mesenteric vascular bed of the rat. **Vascular Pharmacology**. v. 46. p. 97-104. 2007.

ROGEZ, H. **Açaí: Preparo, composição e Melhoramento da conservação**. EDUFPA: Belém-PA, 2000.

RUTH, S. M. V.; SHAKER, E. S.; MORRISSEY, P. A. Influence of methanolic extracts of soybean seeds and soybean oil on lipid oxidation in linseed oil. **Food Chemistry**. v. 72, p. 177-184, 2001.

SAMRA, M. A.; CHEDEA, V. S.; ECONOMOU, A.; CALOKERINOS, A.; KEFALAS, P. Antioxidant/prooxidant properties of model phenolic compounds: Part I. Studies on equimolar mixtures by chemiluminescence and cyclic voltammetry. **Food Chemistry**. v. 125, p. 622-629, 2011.

SCHAUSS A. G.; WU X.; PRIOR R. L.; OU B.; PATEL D.; HUANG D.; KABABICK J. P. Phytochemical and Nutrient composition of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* Mart (Açaí). **Journal of Agricultural and food chemistry**. v. 54. p. 8598-8603. 2006.

SHYAMALA, B. N.; GUPTA, S.; LAKSHMI, A. J.; PRAKASH, J. Leafy vegetable extracts-antioxidant activity and effect on storage stability of heated oils. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. v. 6, p. 239-245, 2005.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F.; FERREIRA, M. A. Métodos para avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**. v. 22, n. 1, p. 94-103. 1999.

SILVA E. M. **Polyphenols from the Amazonia plant *Inga edulis*: process optimization for the production of purified extracts with high antioxidant capacity**. Louvain, 2006. Tese (Doutorado em Ciências Agrônomicas e Engenharia Biológica) – Faculte d'ingénierie biologique, agronomique et environnementale, Université catholique de Louvain – Belgique, 2006.

SILVA, M. S.; SOUZA, J. N. S.; ROGEZ, H.; REES, J. S.; LARONDELLE, Y. Antioxidant activities polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazon region. **Food Chemistry**. v. 101, p. 1012-1018, 2007.

SILVA, E. M.; SILVA, J. S.; PENA, R. S.; ROGEZ, H. A combined approach to optimize the drying process of flavonoid-rich leaves (*Inga edulis*) using experimental design and mathematical modeling. **Food and Bioproducts Processing**. v. 89, p. 39-46, 2011.

SIMÕES, I. S.; GIOIELLI, L. A.; OLIVEIRA, M, N. Misturas binárias e ternárias de gorduras hidrogenadas e óleo de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. n. 3, 1997.

SINGLETON, V. L; ORTHOFER, R.; LAMUELA – RAVENTOS, R. M., Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzimology**. v. 299, p. 152-178, 1999.

SOOBRAATEE, M. A.; NEERGHEEN, V. S.; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O. I.; BAHORUN, T. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. **Mutations Reseach**. v. 579, p. 200-213, 2005.

SOUZA, J. N. S. **Etude des propriétés antioxydantes *in vitro* d'extraits de feuilles de *Byrsonima crassifolia* et *Inga edulis* et caractérisation partille dès composés phénoliques**. Louvain, 2007. Tese (Doutorado em Ciências Agronômicas e Engenharia Biológica) – Faculte d'ingénierie biologique, agronomique et environnementale, Université catholique de Louvain – Belgique, 2007a.

SOUZA, J. N. S.; SILVA, E. M.; SILVA, M. N.; ARRUDA, M. S. P.; LARONDELLE, Y.; ROGEZ, H. Identification and antioxidant activity of several flavonoids of *Inga Edulis* leaves. **Journal Brazilian Chemistry. Society**. v. 18, n. 6, p. 1276-1280, 2007b.

STOBIECKI, M.; KACHLICKI, P. **The Science of Flavonoids**. New York, NY: Springer Science and Business Media. p. 47-69, 2006.

TAIZ, L.; ZEIGAR, E. **Fisiologia Vegetal**. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, p. 316-323, 2004.

TARNAWSKI, M.; DEPTA, K.; GREJCIUN, D.; SZELEPIN, B. HPLC determination of phenolic acids and antioxidant activity in concentrated peat extract - a natural immunomodulator. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 41, p. 182-188, 2006.

TUBEROSO, C. I. G.; KOWALCZYK, A.; SARRITZU, E.; CABRAS, P. Determination of antioxidant compounds and antioxidative activity in commercial oilseeds for food use. **Food Chemistry**. v. 103, p. 1494-1501, 2007.

VERMERRIS, W.; NICHOLSON, R. **Phenolic Compound Biochemistry**. Dordrecht – Netherlands: Springer, p. 1-32, 2006.

WANG, Z. H.; KANG, K. A.; ZHANG, R.; PIAO, M. J.; JO, S. H.; KIM, J. S.; KANG, S. S.; LEE, J. S.; PARK, D. K.; HYUN, J. W. Myricetin suppresses oxidative stress-induced cell damage via both direct and indirect antioxidant action. **Environmental Toxicology and Pharmacology**. v. 29, n. 1, p. 12-18, 2010.

WHEATLEY, R. L. Some recent trends in the analytical chemistry of lipid peroxidation. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 19, n. 10, p. 617-629, 2000.

ZHANG, Z. S.; WANG, L. J.; LI, D.; JIAO, S. S.; CHEN, X. D.; MAO, Z. H. Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. **Separation and Purification Technology**. v. 62, p. 192-198, 2008.

ZHANG, Y.; YANG, L.; ZU, Y.; CHEN, X.; WANG, F.; LIU, F. Oxidative stability of sunflower oil supplemented with carnosic acid compared with synthetic antioxidants during accelerated storage. **Food Chemistry**. v. 118, p. 656-662, 2010.